

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİKOPEN UYGULANAN DENEYSEL DİYABETLİ
RATLARDA SERUM 8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN
(8-OHdG) DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

KİMYAGER Fatih KARAHAN
VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Semiha DEDE

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından 2010-SBE-YL164 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2012

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİKOPEN UYGULANAN DENEYSEL DİYABETLİ
RATLARDA SERUM 8-HİDROKSİ-2'-DEOKSİGUANOZİN
(8-OHdG) DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

KİMYAGER Fatih KARAHAN
VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Başkanı
Prof. Dr. Fatmagül YUR

Üye
Prof. Dr. Semiha DEDE

Üye
Yrd. Doç. Dr. Dide KILIÇALP
KILINÇ

TEZ KABUL TARİHİ
10 / 10 / 2012

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında yol gösteren, tezin yapılmasında büyük katkıları olan ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Semiha DEDE'ye, Yüksek Lisans eğitimim sırasında benden yardımlarını esirgemeyen ve tez çalışmam sırasındaki değerli katkılarından dolayı Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr.Fatmagül YUR ve diğer öğretim üyelerine, tezin deneme ve laboratuvar aşamasındaki yardımlarından dolayı Anabilim Dalı'ndaki doktora öğrencisi arkadaşlarım Sevim ÇİFTÇİ ve Ufuk KÖMÜROĞLU'na, tez çalışmamda maddi katkı sağlayan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na, ayrıca beni yetiştiren ve her zaman destekleyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	II
Teşekkür	III
İçindekiler	IV
Simgeler ve Kısaltmalar	VI
Tablolar	VII
Şekiller	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diabetes Mellitus	3
2.1.1. Tanımı	3
2.1.2. Pankreas	3
2.1.3. İnsülin	4
2.1.4. Diyabetin sınıflandırması	6
2.1.5. Diyabetin tanısı	8
2.1.6. Diyabetin komplikasyonları	8
2.2. 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin	9
2.2.1. DNA, yapısı ve önemi	9
2.2.2. Guanin	11
2.2.3. Guanosin	12
2.2.4. DNA hasarı, nedenleri ve önemi	13
2.2.5. 8-hidroksi 2-deoksiguanozin (8-OHdG) oluşum mekanizması	14
2.2.6. 8-hidroksi 2-deoksiguanozin (8-OHdG)'in oluşum nedenleri	16
2.2.7. 8-hidroksi 2-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin klinik önemi	17
2.3. Likopen	19
2.3.1. Yapısı	19
2.3.2. Metabolizma ve fonksiyonları	20
2.3.3. Diyabette likopen	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Gereç	24
3.1.1. Hayvan materyali	24

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler	24
3.1.3. Kimyasal maddeler	25
3.2. Yöntem	25
3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması	25
3.2.2. Örneklerin toplanması	26
3.2.3. Kan glukoz düzeylerinin ölçülmesi	26
3.2.4. HbA1c düzeylerinin ölçülmesi	26
3.2.5. Serum 8-OHdG düzeylerinin belirlenmesi	27
3.2.6. İstatistiksel analiz	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	32
ÖZET	38
SUMMARY	39
KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	47
EKLER	
EK-1 Etik Kurul Raporu	48
EK-2 Etik Kurul Yazısı	49
EK-3 Araştırma Başvuru Onay Belgesi	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

DM	: Diyabetes Mellitus
Tip 1 DM	: Genç tip diyabet, IDDM
Tip 2 DM	: Erişkin tip diyabet, NIDDM
WHO	: Dünya sağlık örgütü
NDDG	: National Diabetes Data Grup
OGTT	: Oral glukoz tolerans testi
Hba1c	: Glikozillenmişhemoglobin
STZ	: Streptozotosin
i.p	: İntraperitoneal
U/L	: Ünite/litre
8-OHdG	: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	Kan glukoz düzeyleri (mg/dl)	29
Tablo 2.	%HbA1c düzeyleri	30
Tablo 3.	8-OHdG düzeyleri (ng/mL)	31

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.	Pankreasın histolojik görünümü	4
Şekil 2.	İnsülinin polipeptit yapısı	5
Şekil 3.	Kan glukozu üzerine insülinin düzenleyici etkisi	6
Şekil 4.	DNA ipliği	10
Şekil 5.	DNA'nın Watson ve Crick'in çift heliks yapısının diagramatik gösterimi	11
Şekil 6.	Pürin bazı	11
Şekil 7.	Guanin ve bağlı nükleosit ve nükleotid	12
Şekil 8.	Sitozin - guanozin bağlanması	13
Şekil 9.	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)	15
Şekil 10.	Oksijen radikalleri ile 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) oluşumu	15
Şekil 11.	Ortak DNA lezyonları 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) ve 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'in oluşum mekanizması	16
Şekil 12.	Likopenin kimyasal yapısı	20
Şekil 13.	Kronik hastalıklardan korunmada likopenin rolü	21
Şekil 14.	8-OHdG standart eğrisi	28
Şekil 15.	Çalışma gruplarındaki ortalama kan glukoz düzeyleri (mg/dl) düzeylerinin karşılaştırılması	29
Şekil 16.	Çalışma gruplarındaki ortalama %HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması	30
Şekil 17.	8-OHdG Düzeyleri	31

1. GİRİŞ

Diyabetes mellitus, genetik ve çevresel etkenlerin etkisi ile oluşan ve kan glukoz seviyesinin aşırı derecede yükselmesine bağlı hiperglisemi ile karakterize metabolik bir bozukluktur. Glukoz metabolizmasının düzenlenmesinde rol oynayan insülin pankreasın beta hücrelerinden salgılanır. Diyabet ya insülin üretiminin azalması yüzünden (Tip 1 diyabette) ya da insülinin etkisine karşı direnç gelişmesiyle (Tip 2 diyabette ve gestasyonel diyabette) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluklarına neden olur.

Diyabetes mellitus; sık görülen ve en çok araştırılan hastalıklardan biri olmasına rağmen, tedavi ve korunma konusunda daha fazla çalışmalar yapılması gerekmektedir. Diyabetes mellitus veya kullanılan tedavi yöntemleri, pek çok sistem ve metabolizmayı etkileyen komplikasyonlara yol açabilir.

Diyabet ve komplikasyonlarının gelişimi ve ilerlemesinde oksidatif hasarın rolü olduğu, serbest radikal üretiminin arttığı ve antioksidan savunma sisteminin bozulduğu ortaya konulmuştur. Bu nedenle diyabetik hastalara, uzun dönemde oluşması muhtemel komplikasyonlardan korunmak amacıyla özellikle antioksidan özelliği olan gıdaların tüketilmesi önerilmektedir. Likopen, bilinen antioksidan özelliği ile sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten ailesine ait bir pigmenttir.

Genetik bilgi taşıyıcısı DNA'nın kimyasal bütünlüğünü korumak, yaşam için çok önemlidir. DNA sürekli olarak, biyopolimerler ile reaksiyona giren endojen ve ekzojen etkenlere maruz kalmaktadır. DNA hasarı, yaşlanma ve kanser gibi pek çok farklı hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. DNA oksidasyonu bir ölçüsü olarak 8-OHdG ortaya çıkışı, genellikle şeker hastalığı, kalp damar hastalıkları ve kanserde sıklıkla gözlemlendiği üzere oksidatif DNA hasarının takibinde yeni bir yol açmıştır.

Çeşitli hastalıkların patogenezinin anlaşılması, hastalıktan korunma ve tedavi olanaklarının incelenebilmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı yaygındır. Diyabetin neden olduğu komplikasyonların incelenmesi ve tedavi yaklaşımlarının belirlenmesinde, deneysel diyabet modelleri önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışma, deneysel olarak diyabet meydana getirilen ratlarda, pro-enflamatuar ve antioksidan

olarak koruyuculuğu bilinen likopen uygulanmasının, diyabete bağlı komplikasyonların saptanması ve takibinde önemli yeri DNA hasarı ve oksidasyonunun bir ölçüsü olarak 8-OHdG düzeyleri üzerine etkilerini ortaya koymak ve likopenin diyabet komplikasyonlarından korunmadaki olası rolünü araştırmak amacıyla planlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

2.1.1. Tanımı

Diyabetes Mellitus (DM), insülin metabolizmasındaki bozukluklara bağlı olarak, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması disfonksiyonlarına neden olan, hiperglisemi ile karakterize metabolik hastalıklar grubunu ifade eder. DM da organizmaya alınan şeker kana geçer ama vücut tarafından kullanılamaz ve kan şekeri yükselir, sonuçta hiperglisemi oluşur. Poliüri, polidipsi, kaşıntı, kilo kaybı olup bazı durumlarda iştah artışı ve bulanık görme gibi semptomlar gözlenir. Tanı konulmadan uzun süre önce ortaya çıkan hiperglisemi, organlarda hasara neden olduğundan, erken tanının yanı sıra uygun ve etkin tedavi önemlidir (Molitch, 1990; Borodaco, 2007; ADA, 2008; ADA, 2011).

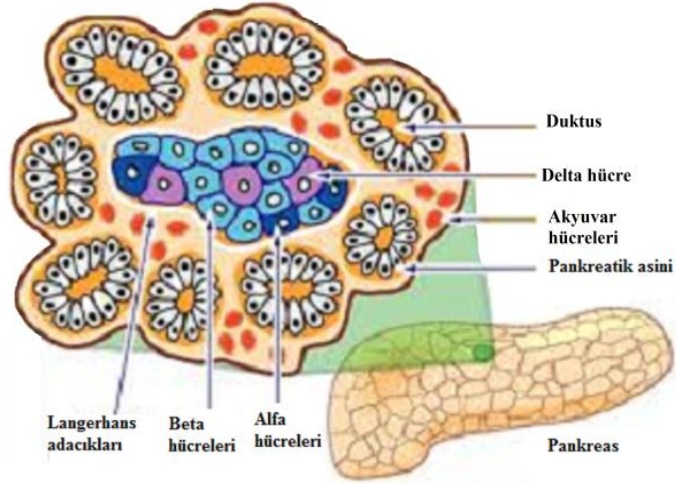
Kronik olarak kontrol altına alınmamış ve yüksek seyreden kan şekeri uzun vadede; obezite, kalp-damar hastalıkları, böbrek yetmezliği ile sonuçlanan (nefropati), sinir sistemi (nöropati), körlüğe kadar götüren (retinopati) ve ayak ülserleri gibi çeşitli komplikasyonlara neden olur (Molitch, 1990; Sacks,1994; ADA, 2011)

2.1.2. Pankreas

Diyabet, pankreas adlı salgı bezinin yeterli miktarda insülin hormonu üretmemesi ya da ürettiği insülin hormonunun etkili bir şekilde kullanılamaması durumun da gelişen bir hastalıktır. Karın boşluğunda bulunan bu bez; dıştan zayıf bir organ kapsülü ile sarıdır ve hem ekzokrin, hem de endokrin olarak çalışır. Ekzokrin kısmı asiner (tubulo-alveoler) bez yapısındadır. Endokrin bölümünü ise Langerhans adacıkları oluşturur (Tanyolaç, 1984; Tahmasebi ve ark., 1999; Nussey ve Whitehead, 2001; Lau ve ark., 2004; Anonim 1; Anonim 2).

Pankreasın Langerhans adacıkları (Şekil 1) adı verilen özel hücrelerden üretilen hormonlar doğrudan hücreler arasına, sonra kılcal damarlar aracılığı ile kana geçer. Langerhans adacıklarında; Alfa (A) hücreleri (glukagon üretilen), Beta (B) hücreleri

(insülin üretilen), Delta (D) hücreleri (somastotin üretilen), Gama (F) hücreleri (pankreatik polipeptit üretilen) olmak üzere dört farklı tipte hücre bulunur (Tanyolaç, 1984; Tahmasebi ve ark., 1999; Nussey ve Whitehead, 2001; Lau ve ark., 2004; Anonim 2; Anonim 3).

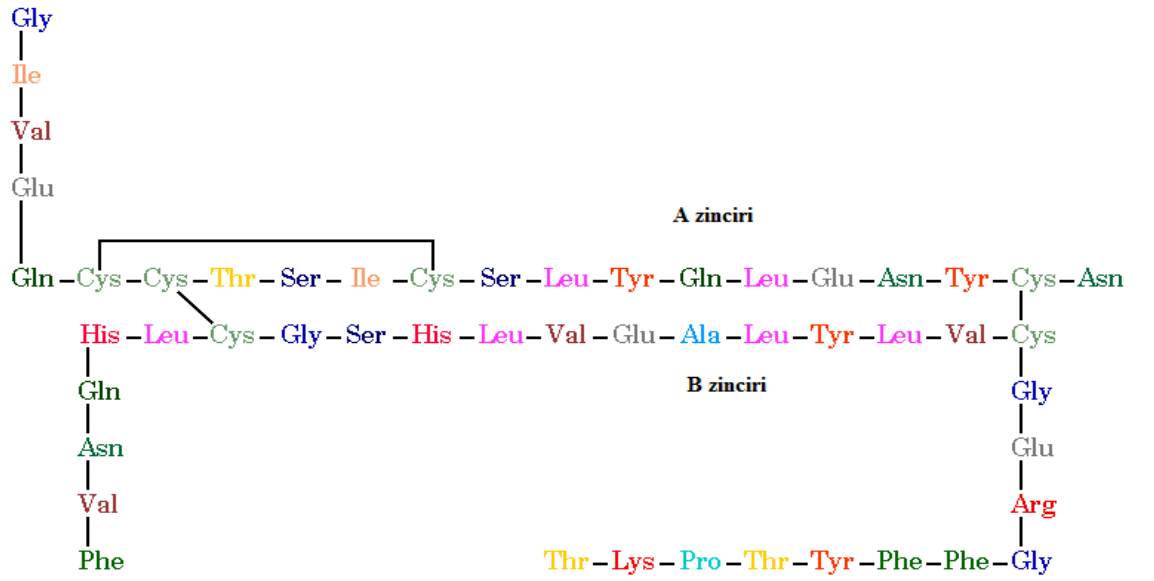


Şekil 1. Pankreasın histolojik görünümü (Anonim 1)

2.1.3. İnsülin

Pankreasta üretilen insülin, kandaki glukozun, kas ve diğer dokular tarafından alınarak enerji üretiminde kullanılmasını sağlar. Küçük globüler yapıdadır ve 21 aminoasitli A ve 30 aminoasitli B olmak üzere iki adet polipeptit zinciri, 2 adet disülfid köprüsü ile bağlıdır (Şekil 2) (Dede, 1999a; Anonim 3).

İnsülinin biyolojik aktivitesi bu disülfid köprüleri tarafından gösterilir. Spesifik bir taşıyıcı molekülü yoktur ve yarı ömrü 5-10 dakika kadardır (Dede, 1999a; Anonim 4; Anonim 5).

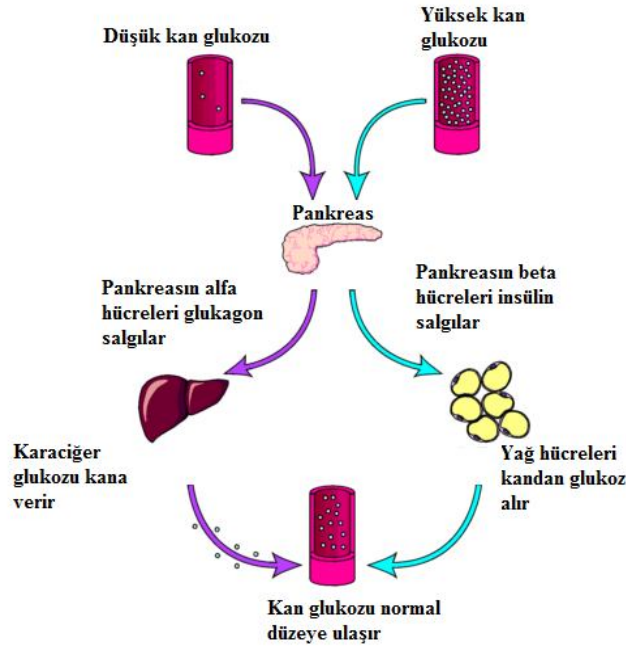


Şekil 2. İnsülinin polipeptit yapısı (Anonim 3)

Kan şekerini düşürücü etkisini, glikoliz enzimlerini aktive ederek gösterir. Glukoz, glukoz-6-fosfat halinde iken plazma membranını geçemez. İnsülin, bu formun membranı geçişini sağlayarak ve kas ve karaciğerde glikojen yapımını uyararak glukoz seviyelerini düşürür (Dede, 1999a; Anonim 5).

Lipolitik hormonların (epinefrin, glukagon), cAMP düzeyleri ve lipaz aktivitesini azaltarak lipolizi engeller. İnsülin noksanlığında lipoliz artar ve karaciğerde serbest yağ asitlerinin miktarı artar, glukagon artar ve yağ asitlerinden oluşan AsCoA sitrik asit döngüsüne katılır. Diyabetlilerde ise AsCoA keton cisimlerine dönüşür. İnsülin, protein sentezini uyararak ve yıkımını baskılayarak protein metabolizması üzerinde etki gösterir (Stryer, 1995; Dede, 1999a; Koolman ve Roehm, 2005; Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007; Anonim 5)

Kan glukoz konsantrasyonu, insülin salgılanmasını düzenleyen en önemli etkidir. Kan glukozu artınca insülin salgılanması artarken, azalırsa insülin salgılanması azalır. %80-100 mg arasındaki glukoz, insülin salınımı için eşik değerdir (Stryer, 1995; Dede, 1999a; Anonim 5) (Şekil 3).



Şekil 3. Kan glukozu üzerine insülinin düzenleyici etkisi (Anonim 6)

2.1.4. Diyabetin sınıflandırılması

Diyabet nedenleri, görülme yaşı ve dönemi gibi faktörlere bağlı olarak farklı şekillerde sınıflandırılabilir. Dünya Sağlık Örgütü'nün 1985'te yaptığı sınıflamaya göre hastalık; klinik grup ve istatistiksel olarak risk altında olan grup olmak üzere iki ana başlık altında gruplandırılır.

a. Klinik grup: Bozulmuş glukoz toleransı ve gestasyonel diyabet olarak sınıflandırılır.

b. İstatistiksel olarak risk altında bulunan grup: Bu grupta hiperglisemi görülmez. Bunlar gestasyonel DM'ta olduğu gibi, yaşamlarının bir döneminde glukoz intoleransı gelişmiş ve sonra tamamen normale dönmüş bireyler olabilir. (Molitch, 1990; Erdoğan, 2005).

En sık başvuru olan sınıflandırma; Tip 1, Tip 2, Diğer diyabet türleri, Tip 4 şeklindedir (Molitch, 1990; ADA, 2011).

Tip 1 DM (Genç tip diyabet, IDDM): Pankreasın insülin salgılayan, beta hücrelerinin selektif olarak yıkılması sonucunda ortaya çıkan kronik, otoimmün bir hastalıktır. Genelde 30 yaş altında çok ağır bir tablo ile başlar (Molitch, 1990; ADA, 2011)

Tip 2 DM (Erişkin tip diyabet, NIDDM): Tip 2 Diyabet ise; en sık 50-75 yaş arası ortaya çıkar. Kalıtımla yakın ilgilidir. Hastaların çoğu şişmandır ve obezite ile Tip 2 Diyabet arasında sıkı bir ilişki vardır. En yaygın olarak görülen diyabet türüdür. Yaygınlığının yanı sıra akut ve kronik komplikasyonlara ve önemli ölçüde mortalite ve morbiditeye yol açar (Molitch, 1990; ADA, 2011).

Diğer diyabet türleri: Çeşitli faktörlere bağlı olarak diyabet oluşabilir Bu faktörler aşağıdaki gibi özetlenebilir (Molitch, 1990; ADA, 2011; Anonim 5; Anonim 6):

- İnsülin salgılanmasındaki düzensizlik ile karakterize çeşitli nedenler,
- İnsülin faaliyetindeki genetik bozukluklar,
- İnsülin reseptörlerinde bulunan mutasyonlara bağlı genel pediyatrik sendrom,
- İnsülin üreten beta hücrelerinin yokluğu veya yıkımlanmasının katıldığı ekzokrin pankreas hastalıkları,
- Endokrin bozukluklar (akromegali veya Cushing sendromu),
- İlaç veya kimyasal (bazı diüretikler veya glukokortikoidler) kaynaklı diyabet,
- Enfeksiyon (rubella, sitomegalovirus) ve otoimmün cevap kaynaklı diyabet,
- Konjenital bozukluklar (Down, Turner ve Klinefelters sendromları) kromozomal bozukluklar gibi durumlar ilgili glukoz tolerans ile sonuçlanır.

Tip 4 gestasyonel diyabet: Gebelikte çeşitli derecelerde glukoz intoleransı görülür. Genelde doğumla birlikte sona erer (Molitch, 1990; ADA, 2011; Anonim 5; Anonim 6).

2.1.5. Diyabetin tanısı

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve National Diabetes Data Grup (NDDG) tarafından diyabet tanısı konulması için aşağıdaki kriterler belirlenmiştir:

- Diyabet semptomları (poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı) ile birlikte günün herhangi bir anındaki plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dl olması,
- Açlık plazma glukoz değerinin ≥ 126 mg/dl olması,
- Oral glukoz testi (OGTT) sırasında 2. saatteki plazma glukoz değerinin ≥ 200 mg/dL (75 gr) olması.

Kriterlerinden en az birinin bulunması diyabet tanısının konulması için yeterlidir (Molitch, 1990; Powers, 2005; ADA, 2011; Anonim 5; Anonim 6).

Glukozenlenmişhemoglobin (HbA1c), DM tanısı konulduktan ve uygun tedavi başladıktan sonra kan glukoz düzeyinin kontrolü gerekir. Uzun dönem kan glukozunun izlenmesinde ve glisemik kontrolün değerlendirilmesinde glikoprotein konsantrasyonları özellikle glikolizehemoglobin olan HbA1c, kan glukoz ölçümlerine ek olarak yaygın şekilde kullanılır (Kurt, 2003; Brownlee ve ark., 2006; Fowler ve Vasudevan, 2010).

Yetişkinlerde total hemoglobinin %97'sini oluşturan HbA (HbA1) 2 alfa ve 2 beta olmak üzere 4 polipeptit zincirinden oluşur. HbA1'in kromatografik analizi sonucu ortaya çıkan ve HbA1a, HbA1b ve HbA1c olarak isimlendirilen minör hemoglobinelere glikolizehemoglobinler denir. HbA1c; total glikoproteinin %80 ini oluşturmaktadır (Kurt, 2003).

2.1.6. Diyabetin komplikasyonları

DM'ta hem akut metabolik komplikasyonlar, hem de uzun dönemde vasküler, renal, retinal ya da nöropatik bozukluklar görülür (Molitch, 1990; Bağrıaçık, 1997). Mikrovasküler komplikasyonlar, organsal hasar, sinir sistemi, böbrek ve retinada belirgin olarak mevcut diyabetik nöropati, nefropati ve retinopati olarak adlandırılan patolojik damar bozukluklarıdır (Yenigün, 1997).

Diyabetik sinir hastalığı veya nöropati diyabetli tüm kişilerin en az yarısını etkiler. Nöropati tipleri, ayaklarda ve ellerde duyu kaybına, ayakta ağrıya neden olur ve kalbi, gözü, mideyi, mesane ve genital organları içine alan somatik organ nöropatiye yol açar (Tesfaye ve ark., 2010). Diyabetik retinopati diyabetin en önemli mikrovasküler komplikasyonlarından biridir (Sjølie ve ark., 2011).

2.2. 8-Hidroksi-2'-Deoksiguanozin

8-OHdG; serbest radikaller aracılığı ve doğrudan fotodinamik aksiyonla oluşan, oksidatif olarak hasara uğrayan bir DNA ürünüdür. 8-OHdG doku, serum, idrar ve diğer biyolojik materyalde bulunabilir (Kasai ve ark., 1986).

8-OHdG, en yaygın olarak bilinen oksidatif DNA hasarı biyomarkırıdır. 8-OHdG, reaktif oksijen ve hidrojen türlerinin DNA'ya verdikleri oksidatif hasarla ortaya çıkar ve oksidatif stresin sabit bir göstergesidir. 8-OHdG mutasyona yol açan, deoksiguanozinin oksidasyonu ile üretilir. Guanozinin hidroksilasyonu; hem normal metabolik süreçlere hem de bir dizi çevresel faktörlere cevaben meydana gelir. 8-OHdG, miktarının artışı; yaşlanma sürecinin yanında, kanser, diyabet ve hipertansiyon dahil bir çok patolojik duruma bağlı olarak meydana gelebilir. Muhtemelen nükleer ve mitokondrial DNA serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif atak için en önemli hedeftir. 8-OHdG hücrel DNA'da oksidatif hasarın hassas, dengeli, ve integral markırı olarak popülerdir (Floyd, 1990; Schneider ve ark., 1990; Kasai, 1997; Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000; Lee ve ark., 2005; Shen ve ark., 2007).

8-OHdG; DNA oksidatif hasarı ile DNA onarım oranı arasındaki dinamik dengeyi sağladığı gibi idrardaki ölçümü, bütün vücuttaki DNA hasarını belirlemek için önemlidir (Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000).

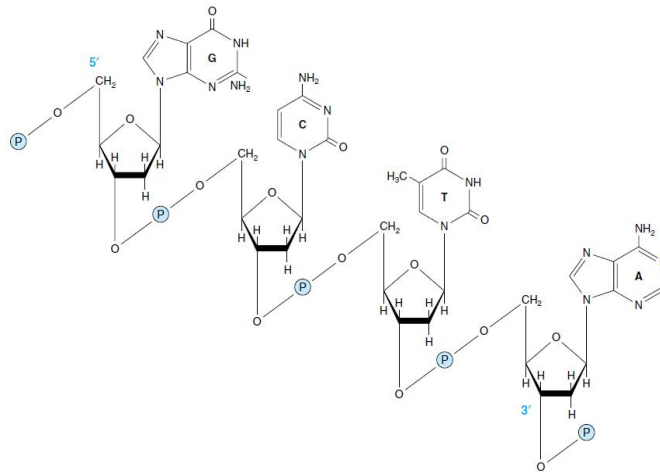
2.2.1. DNA, yapısı ve önemi

DNA, çekirdeğin içinde ve bazen de hücrenin diğer bölümlerinde bulunmakta olup, yüksek vertebralılarda kalıtsal materyalin temelini oluşturur ve kalıtımda aktif olarak rol alır. DNA, oldukça uzun bir molekül olup dört farklı deoksिनүkleotidin her organizma için karakteristik olan belli bir sırada birbirine bağlanarak dizilmesi ile

meydana gelmiştir. DNA genellikle çift sarmal yapıya sahiptir (Murray ve ark., 1993; Murray ve ark., 2003; Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007).

Prokaryotik hücreler, dairesel şekilde DNA'dan meydana gelmiş bir kromozoma sahiptirler. Prokaryotik hücrelerin, nükleik asitleri etrafında bir membran bulunmaz. Bu hücreler bariz bir nukleusa sahip değildir (Murray ve ark., 1993; Murray ve ark., 2003; Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007).

Ökaryotik hücreler, prokaryotik hücrelere nazaran daha büyük ve pek çok DNA molekülüne sahiptir. Ökaryotik hücrelerin DNA'ları proteinlerle birleşerek kromatin iplikçiklerini oluşturmuş ve iki katlı nükleus membranı tarafından sarılmıştır. Ökaryotik hücreler iki katlı membran ile sarılmış bariz bir nükleusa sahiptir (Murray ve ark., 1993; Murray ve ark., 2003; Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007).

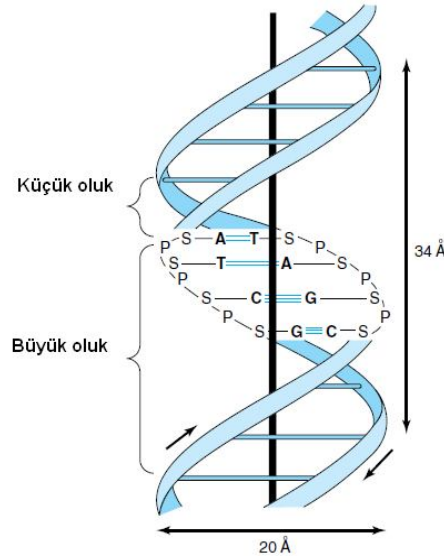


Şekil 4. DNA ipliği (Murray ve ark., 2003)

Bir DNA molekülünün bir iplikçik bölümü, pürin ve pirimidin bazları olan (guanin (G), sitozin (C), timin (T), ve adenin (A)) N-glikozidik bağla nükleobazlara bağlanmış 2-deoksiribozil birimlerinden kurulu fosfodiester iskeletten oluşmuştur (Şekil 4) (Murray ve ark., 2003).

Yatay ok ile gösterilen çift sarmalın genişliği ve dikey ok ile gösterilen bir DNA iplikçığı yakından incelendiği zaman, on baz çifti (bp) nin yaklaşık olarak 4 Å olduğu görülür. Çifte sarmalın merkezi eksen ile gösterilir (Şekil 5). DNA'nın omurgasını oluşturan ve hidrofilik özelliğe sahip olan şeker ve negatif yüklü fosfat üniteleri çift

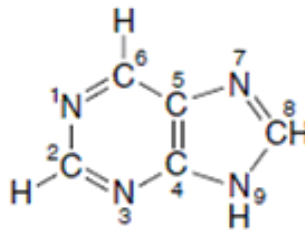
sarmalın dışı bakan yüzünde ve kendilerini saran su molekülüne dönüktür. Hidrofobik olan pürin ve pirimidin bazları ise çift sarmalın içi bakan yüzünde ve ana eksene dikey olarak yer alırlar (Murray ve ark., 2003).



Şekil 5. DNA 'nın Watson ve Crick'in çift heliks yapısının diagramatik gösterimi (Murray ve ark., 2003).

2.2.2. Guanin

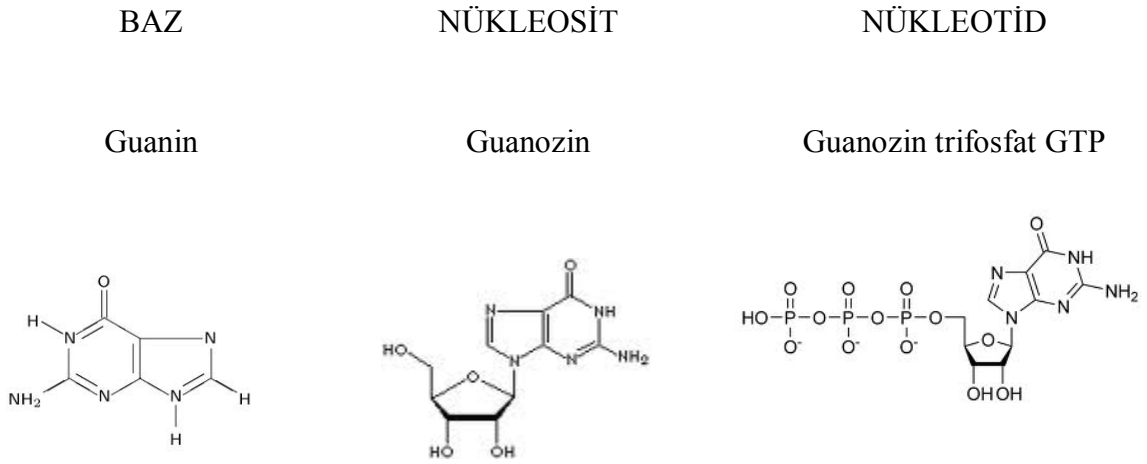
Primidin halkasına bir imidazol halkasının bağlanmasıyla pürin bazlar oluşur (Şekil 6). Nükleik asitlerin yapısında bulunan en önemli pürin bazları adenin ve guanindir (Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007).



Şekil 6. Pürin bazı (Anonim 9)

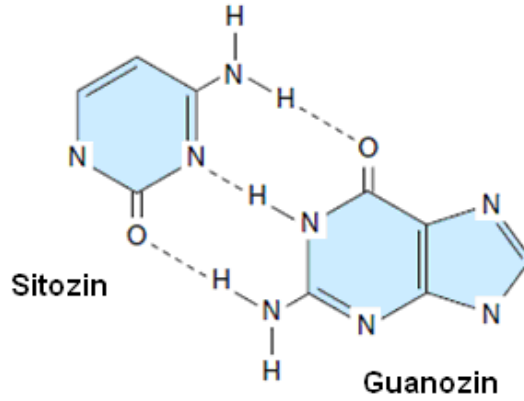
2.2.3. Guanosin

Bir pürin veya primidin bazın, riboz veya deoksiriboz şekerinin 1 no'lu karbon atomuna bağlanmasıyla nükleositler meydana gelir. Nükleositler içerdikleri baza göre isimlendirilirler. Guanin pürin bazı ile oluşan nükleosite guanozin denir (Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007) (Şekil 7).



Şekil 7. Guanin ve bağlı nükleosit ve nükleotid

Bir DNA sarmalında bulunan bazlar diğer sarmaldaki baz ile eşleşir. Adenin daima timinle, sitozin ise daima guanin ile eşleşir. Karşı karşıya duran bazlardan biri pürin ise diğeri mutlaka primidin olmalıdır. İki pürin bu yapı için büyük, iki primidin ise küçüktür. DNA yapısındaki Adenin (A) daima iki hidrojen bağı ile Timin (T)'e ve Guanin (G) ise daima üç hidrojen bağı ile Sitozin (C)'e bağlanır (Bayşu-Sözbilir ve Bayşu, 2007) (Şekil 8).



Şekil 8. Sitozin - guanozin bağlanması (Murray ve ark., 2003)

Bir canlıda bulunan DNA molekülleri, o canlının hayatı boyunca hangi protein ve RNA'ları, organizmanın hangi vücut bölgesinde ve ne zaman sentez edeceğini, hangi doku ve organları oluşturacağını ve o canlının ne tip bir kişiliğe sahip olacağını tayin edecek bilgileri yapısında bulundurmaktadır. Genetik bilgiyi taşımasının yanı sıra, kalıtım ve genetik hastalıklarının kimyasal temeli DNA'nın yapısında yer alır. Temel bilgi yolu, öncelikle DNA'dan RNA sentezi ve daha sonra protein sentezi gerçekleşir (Santral Dogma). Bu bilgi normal hücre fizyolojisi ile hastalıkların fizyopatolojisini moleküler düzeyde tanımlamak için kullanılır (Murray ve ark., 1993).

2.2.4. DNA hasarı, nedenleri ve önemi

Çeşitli kimyasal maddeler ve radyasyon gibi dış etkenler DNA'nın kimyasal ve fiziksel yapısında değişikliklere neden olabilir. Bu değişiklikler replikasyonu ve transkripsiyonu durdurabilir ve bu nedenle ölümcül olabilir veya doğrudan ya da dolaylı mutajenezle mutasyonlar oluşturabilir. Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde endojen veya ekzojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler "DNA hasarı" olarak adlandırılır. DNA da oluşan başlıca hasarlar; kromatin yapısının bozulması, DNA bazlarının oksidasyonu, yanlış eşleşmesi ve tubulin polimerizasyonunun baskılanması, bazların kimyasal olarak değişmesi, kromatin yapısındaki anomaliler, DNA zincirinin kırılması, DNA-DNA ve DNA-protein çaprazlaşmaları, DNA da mutasyonlar gibi bir takım yapısal bozulmalardır (Turner ve ark., 2004; Kulaksız ve Sancar, 2007).

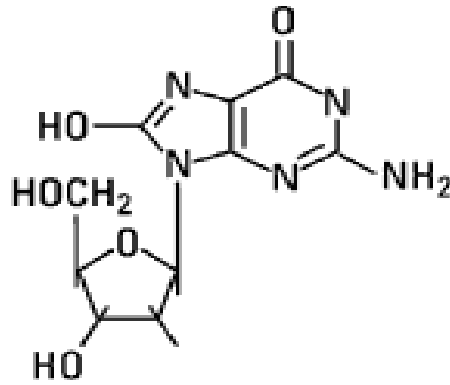
İnsan vücudundaki hücreler normal hücresel enerji üretiminin doğal ürünleri olarak ve büyük miktarlarda geniş ayrıntılı egzersiz veya çevredeki kimyasal ajanlarla ortaya çıkan reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından sürekli saldırıya uğrar. Bununla birlikte, inflamatuvar hastalıkları, patofizyolojik mekanizmanın parçası olarak da ROS üretirler (Halliwell, 1996).

Süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri, 8-oksoguanin içeren çeşitli lezyonlar oluşturur. Bu tip hasar kendiliğinden olabildiği farklı iç ve dış etkenlere bağlı da olabilir. Çevresel faktörler gibi ekzojen ve DNA replikasyonu ve DNA rekombinasyonu gibi hücresel olaylar sırasında da endojen olarak genomik DNA'nın bütünlüğünde değişiklikler oluşabilir (Turner ve ark., 2004; Kulaksız ve Sancar, 2007).

Oksidatif stresin, mutagenesis ve karsinogenesis ile seyredebilen DNA hasarını indüklediği bilinmektedir (Matos ve ark., 2001). Normal aerobik solunumun yan ürünleri olan aktif oksijen türleri, süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH), oksidatif hasarlara ve dolayısı ile çeşitli hastalıklara neden olurlar. Bu mutasyonlar çeşitli hastalıklarda önemli rol oynarlar. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Dizdaroğlu, 1998; Williams ve Jeffrey, 2000; Cooke ve ark., 2003; Turner ve ark., 2004).

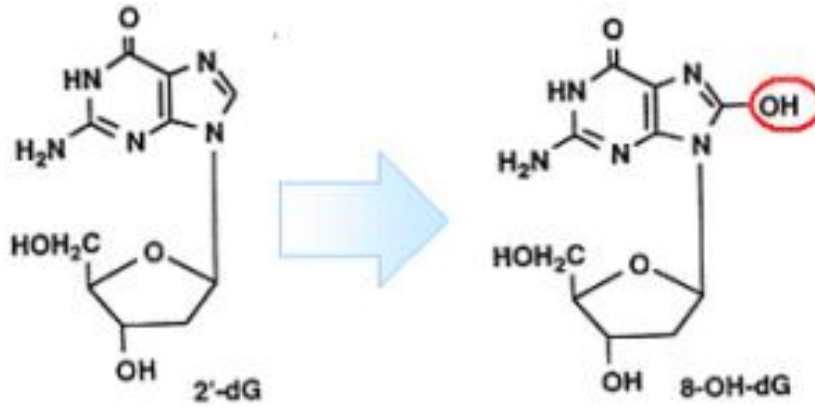
2.2.5. 8-hidroksi 2'-deoksiguanozin oluşum mekanizması

Reaktif oksijen türleri DNA'da 100'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşumuna neden olmakla beraber, en sık bozukluk guanozin biriminde gözlenir. 8-OHdG oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı göstergesidir (şekil 9). 8-OHdG, adenin ile yanlış eşleşir ve yüksek sıklıkta G-T transversiyonuna neden olur (Dizdaroğlu, 1998; Williams ve Jeffrey, 2000; De Martinis ve De Lourdes Pires Bianchi, 2002; Cooke ve ark., 2003; Turner ve ark., 2004).

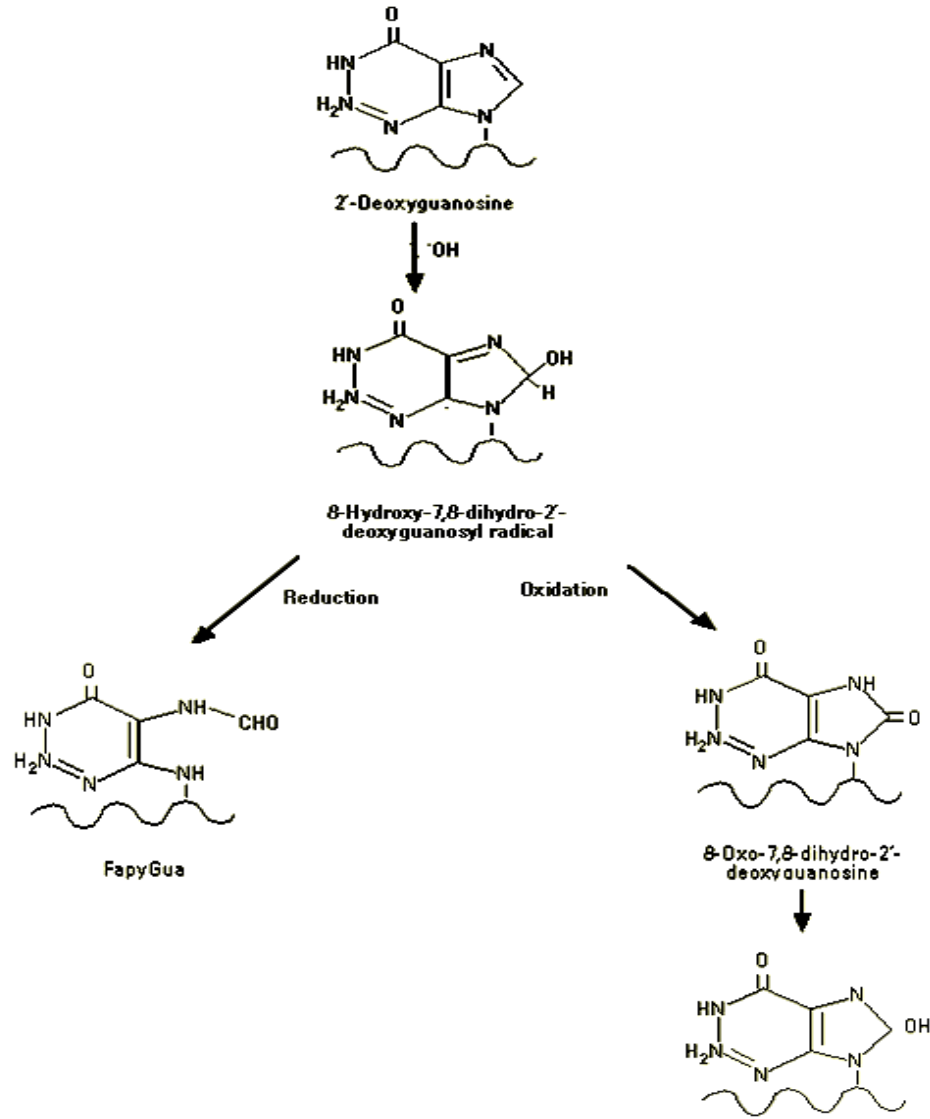


Şekil 9. 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (Kasai, 2002)

8-OHdG modifiye bir bazdır. Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır. Oksidatif yıkım sonucu deoksi guanozin oluşur, dG (deoksiguanozin) dört doğal nükleotid içinde en kolay okside olandır. Belirlenen bölgelerde lezyonlar içeren oligonükleotidlerin biyokimyasal, biyofiziksel ve biyolojik incelenmesi, DNA lezyonlarının etkileri için bir moleküler temel oluşturmaktadır (Greenberg, 2004; Mc Dorman ve ark., 2005). Guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşur (şekil 10, 11).



Şekil 10. Oksijen radikalleri ile 8-OHdG oluşumu (Kasai, 2002)



Şekil 11. Ortak DNA lezyonları 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) ve (8-OHdG)'in oluşum mekanizması (Cadet ve ark., 1995).

2.2.6. 8-hidroksi 2'-deoksiguanozin'in oluşum nedenleri

8-OHdG oksidatif stres ve oksidatif DNA hasarının bir belirtici olarak önem kazanmaktadır. DNA sürekli ekzojen kaynaklı ve endojen oksidanlardan gelen oksidatif hasara maruz kalır. Bu nedenle endojen ve ekzojen kaynaklı, oksidatif hasara yol açabilen her tür etkenin DNA hasarına ve dolayısı ile 8-OHdG oluşumuna neden olması beklenebilir. Nitekim çeşitli kimyasal maddelerin 8-OHdG düzeyinde artışa neden olduğu bildirilmektedir. Etil alkol, 3-metil alkol-4 dimetilaminoazobenzen, demir

nitritotriasetat (Fe-NTA), asbestos gibi kimyasal maddelerin deneysel olarak uygulanmasından sonra, yemek borusu, karaciğer, böbrek ve akciğerde, 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu gözlemlendi (Kasai, 2002). Doku DNA'sında 8- OHdG oluşumunun, oksidatif stresin karsinogenezisin oluşum mekanizmalarından biri olduğu düşünülmektedir (Kasai, 2002).

Ayrıca sigara, kadmiyum, mazot (dizel) gibi günlük hayatta sıkça maruz kalınan kimyasal maddelerin deneysel olarak uygulandığı çalışmalarda da 8-OHdG düzeyinin arttığı bildirilmiştir (Kasai, 2002).

2.2.7. 8-hidroksi 2'-deoksiguanozin düzeylerinin klinik önemi

Genetik bilgi taşıyıcısı olarak DNA'nın kimyasal bütünlüğünü korumak, yaşam için çok önemlidir. DNA sürekli olarak, biyopolimerler ile reaksiyona giren endojen ve eksojen etkenlere maruz kalmaktadır. DNA hasarı, yaşlanma ve kanser gibi pek çok farklı hastalıkların ortaya çıkmasında etkili olmaktadır (Greenberg, 2004). Bağırsak kanseri, diyabet, Alzheimer hastalarında, 8-OHdG düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır. (Kasai; 2003; Nakano ve ark., 2003).

DNA oksidasyonu bir ölçüsü olarak 8-OHdG ortaya çıkışı, genellikle şeker hastalığı, kalp damar hastalıkları ve kanserde sıklıkla gözlemlendiği üzere oksidatif DNA hasarının takibinde yeni bir yol açmıştır. Nükleer ve mitokondriyal DNA, oksidatif hasar ortak bir hedefidir. Guanin, molekülün 8. pozisyonuna bir hidroksil grubunun katılmasıyla oksidasyona en eğilimli nükleik asittir (Prabhakar ve ark., 2007).

Süperoksit anyon ve nitrik oksit gibi reaktif oksijen türleri (ROS), antioksidan sistemlerini etkisiz hale getirerek, vücutta oksidatif strese neden olurlar. ROS'nin başlıca hücrel hedefleri, membran lipidleri, proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlardır. Oksidatif stresin çeşitli hastalıkların ve yaşlanma sürecinin gelişmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Kasai ve ark., 1986; Prabhakar ve ark., 2007; Tsukahara, 2007).

8-OHdG, DNA reaktif oksijen türleriyle (ROS) yıkımlandığı zaman meydana gelir. 8-OHdG insan ve hayvanlarda idrar, serum ve dokuda belirlenebilir ve oksidatif stresin en hassas biomarkırlarından biridir. Ayrıca dokudaki 8-OHdG düzeyleri de,

organlardaki oksidatif stresi gösterir (Kasai ve ark., 1986; Prabhakar ve ark., 2007; Tsukahara, 2007).

Ateroskleroz ve hiperglisemi, 8-OHdG artışına neden olan durumlar arasında sayılmaktadır (Prabhakar ve ark., 2007).

Diabetes mellitusun uzun süreli komplikasyonlarının çok iyi tanımlanmış bir patogenetik faktörü olan hiperglisemi, sadece daha fazla ROS üretmekle kalmaz, aynı zamanda, antioksidan süpürücü enzimlerin glikasyonu ile antioksidatif mekanizmaları da zayıflatır. Hiperglisemi ile ilişkili oksidatif stres için önerilen mekanizmalar; glikoz otooksidasyonu, ileri derecede glikozilasyon son ürün oluşumu ve hiperglisemiden kaynaklanan metabolik strestir (Ha ve Kim, 1999)

Diyabetli bireylerde lipit peroksidasyonunun arttığı bilinmektedir. Bu amaçla yapılan çalışmalarda; 8-OHdG, malondialdehit (MDA) gibi biomarkırların ölçümü, organizmalardaki oksidatif stres durumunu belirlemek için önemlidir (Piconi ve ark., 2003).

Oksidatif stres ve oksidatif DNA hasarının bir belirteci olan 8-OHdG'in, artan miktarına bağlı olarak idrarla da atıldığı bilinmektedir. Okside DNA devamlı onarılır ve okside bazlar idrarla devamlı olarak çıkarılır. Üriner 8-OHdG ölçümü oksidatif hasarın bir indikatörü olarak yararlı olabilir (Shigenaga ve ark., 1989; Chiou ve ark.; 2003).

Tip-1 diyabetli bireylerde, ilk aşamada idrardaki 8-OHdG ölçümüne dayanarak, artan oksidatif stres ve veziküler komplikasyon riskinin ortaya çıkabileceği bildirilmiştir (Hatat ve ark.,2006).

Diyabetik hastalardaki idrar 8-OHdG seviyesi sağlıklı nesnelerin idrarından daha yüksek bulunmuştur. 8-OHdG'in idrarla atılımı, mikroalbuminüri atışı ile birliktedir (Tsukahara ve ark., 2003). Oksidatif doku yıkımının göstergeleri olan lipit peroksitleri ve 8-OHdG albuminüri ile birlikte diyabetik ratların böbreklerinde de artmıştır (Ha ve Kim, 1999).

2.3. Likopen

Vitaminler, canlı organizmada büyüme, gelişme ve sağlık durumunun devam ettirilebilmesi için vücudun eser miktarlarda gerek duyduğu organik bileşiklerdir. Hastalıkların profilaksisi, akut hastalıkların tedavisi, kanser ve koroner hastalıkların korunması gibi fonksiyonların yürütülmesinde de görev alırlar (Dede, 1999b).

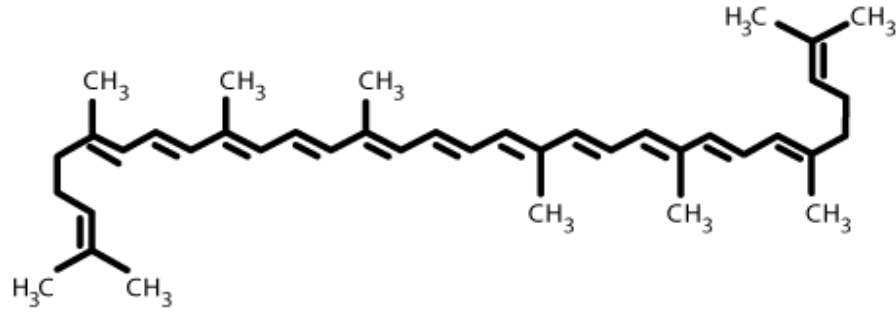
Likopen, sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karoten (*carotenoid*) ailesine ait bir pigmenttir. Likopen birçok meyve ve sebzenin yapısında yer almakla beraber, en fazla domates ve domates ürünlerinde bulunur (Nguyen ve Schwartz, 1999; Giovannucci, 1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003).

Uzun zincir şeklindeki asiklik, aşırı hidrofobik yapısı ve içerdiği konjuge çift bağ nedeniyle antioksidan aktivite gösterir. Likopen; retinol, α -tokoferol ve karotenoidler gibi oksijen radikallerini yok ederek antioksidan özellik gösterir (Bast ve ark. 1998). Anguelova ve Warthesen (2000), likopen antioksidan aktivitesinin α -karoten ve β -karotenin antioksidan aktivitelerinden daha yüksek olduğunu saptadılar.

Likopen ve bazı antioksidan vitaminler ile C reaktif protein (CRP) seviyesini belirleyen sistemik enflamasyon tepkilerinin arasında ters bir ilişki bulunur. Enfeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek, antiinflamatuvar etki gösterir. Likopen siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek pro-enflamatuvar moleküllerden prostoglandin, prostasiklin, tromboksan ve lökotrien sentezini baskılar. Bu sebeple yangıya yol açan reaksiyonlar önlenmiş olur (Pruthi ve ark., 2003).

2.3.1. Likopenin yapısı

Likopen; simetrik düzlemde alifatik, yani düz zincirli, bir hidrokarbondur (Şekil 12). Tetraterpen ($C_{40}H_{64}$) yapıda olup, 8 tane izopren (C_5H_8) ünitesinin birleşmesinden meydana gelmektedir. Likopen, yapısında 11 tane konjuge ve 2 tane konjuge olmayan toplam 13 tane çift bağ ve β -iyonon halkası içermektedir (Sevindik, 2007).

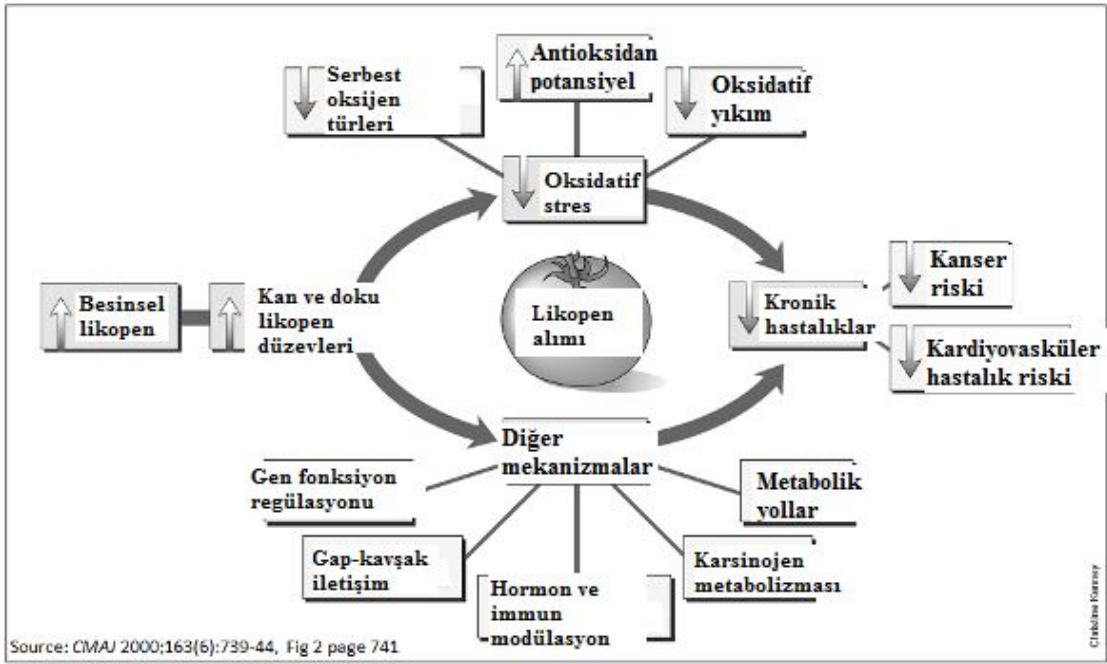


Şekil 12. Likopenin kimyasal yapısı (Sevindik, 2007)

2.3.2. Metabolizma ve fonksiyonları

İnsanlar 50 den fazla diyetle bağlı karotenoidi absorbe ve metabolize edebilir. α -karoten, β -karoten, β -kriptoksantin, lutein ve likopen insan kanında en bol bulunan karotenoidlerdir. Likopen, insan metabolizmasında en baskın karotenoiddir. Likopen seviyeleri, çeşitli biyolojik durumlarda ve yaşam şartlarında etkilidir. Likopen, özellikle yağdan zengin dokular olan deride, karaciğerde, testisler ve prostatta bol miktarda bulunur (Giovannucci,1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003).

Likopen, hücreleri serbest radikal hasarından korumasının yanı sıra, hücreler arasındaki bağları güçlendirmekte ve hücre metabolizmasını geliştirmektedir (Şekil 13). Yağda çözünen yapısı nedeniyle ciltte de antioksidan-koruyucu etki gösterir. Ultraviyole ışınlarına karşı koruma sağlar. Aynı zamanda kolesterol düşürücü özelliği vardır. Göğüs, rahim, karaciğer, prostat kanserlerinden koruyan, Alzheimer hastalığını önleyen, kalp damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan likopen, antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır (Boileau ve ark., 2001; Mashima ve ark., 2001; Neyestani ve ark., 2007).



Şekil 13. Kronik hastalıklardan korunmada likopenin rolü (Anonim 7)

Diyetle alınan likopen, vücuttaki likopen düzeyini artırabilir ve bir antioksidan olarak hareket eder. Reaktif oksijen türlerini yakalayarak toplam antioksidan potansiyeli artırarak oksidatif hasarı azaltır. Düşük oksidatif stres, kanser ve kardiyovasküler hastalık riskinin azalmasına yol açabilir. Alternatif olarak, vücutta artan likopen durumu, gen fonksiyonlarını düzenleyerek hücre içi iletişimi geliştirir, hormon ve bağışıklık yanıtı harekete geçirir veya metabolizmayı düzenler, böylece kronik hastalık riskini azaltır (Neyestani ve ark., 2007; Srinivasan ve ark., 2007; Anonim 8)

Likopenin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, serum likopen seviyesi ile immünoglobulin arasında önemli bir negatif korelasyon bulunmuştur. Serum likopen seviyeleri ve Ig G ve IgM ile ilişkilidir. İlginçtir yağ kütesinin miktarının değişmesi serum IgG ile direkt ilişkilidir fakat serum IgM ile ters ilişkilidir. Likopen T hücrelerine bağlı adaptif (pro-aterjenik) humoral immün etkiyi azaltarak uzun süreli diyabet komplikasyonlarında özellikle atherogenesisde önleyici etkiler sağlayabilir (Neyestani ve ark., 2007). Sitokin etkiyi azaltarak, akciğerlerdeki alerjik inflamasyonu sistematik olarak azaltmaktadır. Ayrıca likopen takviyesinin astıma karşı koruyucu bir etkiye sahip olabileceği bildirilmektedir (Hazlewood ve ark., 2011).

Shidfar ve ark. (2011), likopen ve diğer antioksidanlar bakımından zengin olan çiğ domatesin günlük 200 gr tüketiminin tip 2 diyabetlilerde kan basıncına ve apoliproteine (apoA-I)etki ederek kardiyovasküler riskin düşürülmesinde faydalı olabileceğini bildirmektedirler .Karoten türevleri olan β kriptoksantin, likopen ve α -karotenin yüksek plazma konsantrasyonlarının karotid aterosklerosis ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Karppi ve ark., 2011).

2.3.3. Diyabet likopen ilişkisi

Oksidatif stres tip 2 diyabetin ve komplikasyonlarının pathogenesisinde önemli bir rol oynar. Etkili bir antioksidan olan likopen oksidatif strese bağlı kronik hastalıkların önlenmesindeki potansiyel rolündenden dolayı son yıllarda ciddi bilimsel ilgi görmektedir (Li ve ark., 2010). Zhu ve ark., (2011), diyabete bağlı oksidatif stresin endotel disfonksiyona neden olduğunu, güçlü bir antioksidan madde olan likopenin oksidatif stresi azaltarak diyabetik endotel disfonksiyonu azaltabileceğini ve kronik likopen tedavisinin endotel disfonksiyon ile ilişkili diyabetik vasküler komplikasyonları önlemede yararlı olabileceğini bildirmektedir.

Serum likopenin ölçümü oksidatif hasar değerlendirilmesi için uygun yeni bir yöntemdir. Diyabetik retinopatili hastalarda tanı ve tedavinin takibinde düşük likopen düzeyleri önemlidir. Diyabetli hastalarda serum likopen düzeyleri kontrole göre önemli oranda azalır. Nitekim proliferatif diabetik retinopatili diyabet hastalarının serum likopen düzeyleri, diğer tür retinopatili veya retinopatisiz diyabetlilerden bile daha düşük olarak bulunmuştur. Ayrıca serum likopen düzeyleri ve hemoglobin A1c arasında da negatif korelasyon saptanmıştır (Li ve ark., 2010).

Kuhad ve ark. (2008), diyabetik hastalarda beyin korteks ve hipokampusunda oksidatif stres parametrelerini arttığını, diyabete bağlı olarak oluşan öğrenme ve hafıza bozukluklarının tedavisinde uzun süreli likopen uygulanmasının tedavi edici potansiyeli olduğunu bildirmektedir.

Aynı şekilde 4 haftalık süren likopenin kronik tedavisi, soğuk alloidini ve termal hiperaljeziyi önemli bir şekilde azaltmıştır. Bu veri, diyabetik nöropatinin tedavisinde

bir adjuvan tedavi olarak likopen kullanımının önemini vurgulamaktadır (Kuhad ve Chopra, 2008).

Tip 2 diyabet hastalarında domates suyunun kullanılmasıyla plazma likopen seviyesinde gözlenen belirgin artışa bağlı olarak kötü huylu kolesterolün oksitlenerek damarlar için zararlı ürünlere dönüşümü belirgin bir biçimde azaltılabildiği görülmüştür. Glukoz metabolizmasının zayıflaması ile serum karotenoid düzeylerinin glukoz tolerans anormalliklerine bağlı olarak lineer azaldığı bildirilmektedir (Coyne ve ark., 2005).

Plazma likopen düzeyleri ve tip 2 diyabet riski arasında orta yaşlı kadınlarda az bir ilişki olabileceği ve bu durumun daha ileri çalışmalarda kanıtlanması gerektiğine dair bir çalışma mevcuttur (Wang ve ark., 2006). Diyabetin ilerlemesi ile birlikte artan retinopati, karotenoid durumu ile ilişkili olabilir. Karotenoidlerin dolaşımdaki düzeyleri diyetle alınan miktarına büyük ölçüde bağlıdır ve prooksidasyon/antioksidan dengesi üzerine etkilidir. Diyabette düşük seviyelerdedir ve yaşa bağlı makula dejenerasyonunun oluşumuna katıldığı bildirilmiştir. Ancak, karotenoidler ve diyabetik komplikasyonlar arasındaki ilişki hakkında az şey bilinmektedir. Karotenoidlerin, diyabetik retinopatiden sorumlu olduğunu söylenebilir. Daha da önemlisi yapılan çalışmalarda, diyete bağlı modülasyonu artan, lutein ve likopen açısından zengin gıdaların alımı ile birlikte retinopati riskini azaltmanın mümkün olabileceği görüldü. Likopenin muhtemelen, total antioksidan düzeyini artırarak ve MDA-LDL yapımını inhibe ederek, T hücre-bağımlı adaptif (pro-aterojenik) immün cevabın hafifletmiş olması muhtemeldir. Likopen makrofajlar tarafından oksitlenmiş LDL alımını önleyerek ve köpük hücre (lipofaj) oluşumunu inhibe ederek, kardiyovasküler hastalık riskini azaltabilir (Neyestani ve ark., 2007; Brazionis ve ark., 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan materyali

Çalışma materyalini, Y.Y.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 28.01.2010 tarih ve 2010/01-04 karar sayılı Araştırma Başvuru Onay Belgesi ile yapılması uygun görülen, Prof.Dr. Semiha DEDE'nin danışmanlığını yaptığı, Şerif ÖZMUTLU'nun "Deneysel diyabetli ratlarda likopen uygulamasının ACE aktivitesi üzerine etkisi" isimli Yüksek Lisans Tezi'nde kullanılan ratların serumları oluşturmaktadır. Söz konusu çalışmada deneme grupları aşağıdaki şekilde düzenlenmiştir.

Çalışmada Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Laboratuvarı'ndan temin edilen 28 adet 200–250 g ağırlığında Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Ratlar rastgele her biri yedi rattan oluşan; kontrol (K), diyabet oluşturulup likopen verilmeyen (D), diyabet oluşturulup likopen verilen (DL) ve likopen verilen grup (L) olmak üzere dört gruba ayrıldı. Ratlar dört haftalık deneme süresince 12 saat karanlık/aydınlatma, sıcaklığı $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ olarak ayarlanmış odalarda, önlerinde sürekli olarak yem ve taze su bulunan kafeslerde barındırıldı.

3.1.2. Kullanılan alet ve malzemeler

- Biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri (PlusMED Accuro)
- Cam Tüp (Antikoagülanlı, vakumlu Kapaklı)
- Derin dondurucu (Arçelik),
- Ependorf tüp
- EDTA'lı tüpler
- Hassas terazi (Gee Avery)
- Karıştırıcı -Vortex (Genine)
- Klinik santrifüj (Hettich EBA 3-S)
- Kronometre (Larus JAPAN)

- Otomatik pipetler (100, 250, 1000, 5000 µl, Ependorf)
- pH metre (CG 840 Schott)
- Soğutmalı Santrifüj (Heraeus Sepatech Minifuge RF)
- ELISA (Anthus 20 rt)

3.1.3. Kimyasal maddeler

- DNA Damage EIA kit (Catalog Number: ADI-EKS-3501) (Enzo Life Science)
- Distile su
- Fizyolojik Tuzlu Su
- HbA1c ticari kiti (Roche Diagnostics, Germany)
- Likopen (Redivivo-%10 FS (DSM Besin Maddeleri Ltd. Şti.)
- Streptozotosin (Sigma, USA)

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme gruplarının hazırlanması

Diyabet oluşturulacak D ve DL grup ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4,5 olan sitrat tamponu içinde çözündürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı (Vardı ve ark., 2005).

1. Grup (Kontrol-K): Rastgele seçilen yedi adet rat kontrol grubu olarak ayrıldı. İntraperitoneal (i.p) yoldan tek doz serum fizyolojik enjekte edildi.

2. Grup (Diyabet-D): Yedi adet rata, streptozotosin (STZ) (Sigma, USA) pH: 4,5 olan sitrat tamponu içinde çözündürülüp, intraperitoneal (i.p) yoldan 45 mg/kg uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şekerleri 270 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi.

3. Grup (Diyabet+Likopen-DL): Yedi adet rattan oluşan gruba, önce sitrat tamponu içinde çözündürülüp, pH: 4,5 olarak ayarlanan 45 mg/kg STZ (Sigma, USA)

intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı. Kan şekerleri 270 mg/dl ve üzerinde olan ratlara, mısırözü yağında çözdürülen likopen çözeltisi 10 mg/kg/gün olarak 28 gün boyunca ağız yolundan uygulandı.

4.Grup (Likopen-L): Likopen mısırözü yağında çözdürülerek 10 mg/kg/gün olarak 28 gün süresince ağız yoluyla uygulandı.

3.2.2. Örneklerin toplanması

Dört haftalık deneme sürecinden sonra eter anestezi altında hayvanların kalplerinin sol ventrikülünden, jelli cam serum tüplerine ve EDTA'lı tüplere kan alındı. Tüplere alınan kanlar 3000 devirde +4°C'de 10 dakika süreyle santrifüje edildi. Elde edilen serum örneklerinde 8-OHdG düzeyleri tespit edildi. Tüm kan örneklerinde ise HbA1c analizleri yapıldı.

3.2.3. Kan glukoz düzeylerinin ölçülmesi

Kuyruk veninden alınan kan örneklerinde glukoz düzeyleri, PlusMED Accuro marka biosensor şeker ölçüm cihazı ve stripleri vasıtasıyla saptandı.

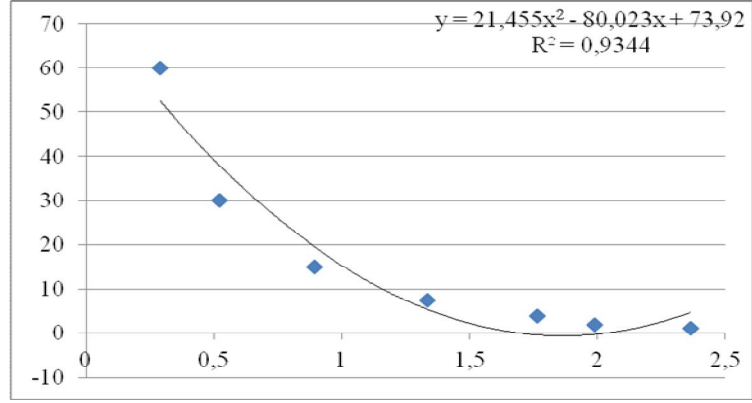
3.2.4. HbA1c düzeylerinin ölçülmesi

Ratların kalbinden EDTA'lı tüplere kan örnekleri alındı. HbA1c miktarı tayinleri tüm kanda aynı gün yapıldı. %HbA1c düzeyleri Roche (Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim, Germany) firmasının ticari kiti kullanılarak HITACHI-911 otoanalizörü ile tayin edildi. Kullanılan yöntem immunotürbidimetrik olup (Tina-quant), spesifik olarak sonuçlar elde edilmektedir. Bu yöntem ile %HbA1c düzeyi 4.8-6.0 normal kabul edilmekte ve 6.0'dan yukarısı patolojik olarak değerlendirilmektedir (Fairbanks ve Klee, 1994).

3.2.5. Serum 8-OHdG düzeylerinin belirlenmesi

Serum 8-OHdG düzeylerinin belirlenmesi için DNA Damage EIA kit (Catalog Number: ADI-EKS-3501) (Enzo Life Science) kullanıldı. Bu ticari kitin kullanım prosedürü aşağıda özetlendi:

1. Parantez içinde verilen kit malzemeleri oda sıcaklığına getirildi (8-OHdG Immunoassay Plate, 20X Wash Buffer, Sample Diluent, Antibody Diluent, HPR Conjugate Diluent, TMB Substrate ve Stop Solution 2)
2. 8-OHdG standartları ve numune örnekleri Sample Diluent ile hazırlandı.
3. Hazırlanmış olan numuneler ve standartlar 8-OHdG immunoassay pleytin içine ikiye bölünecek şekilde, 50 µl olarak eklendi.
4. Blank hariç her bir kuyucuğa sulandırılmış 50 µl Anti-8-OHdG eklendi ve pleytin üzeri kapatıldı.
5. Pleyt, oda sıcaklığında 1 saat süreyle inkübe edildi.
6. Pleyt kuyucukları, 1X Wash Buffer ile 300 µl /kuyucuk olacak şekilde, 6 defa yıkandı.
7. Blank hariç her tüpe 100 µl Anti-Mouse IgG:HPR Conjugate eklendi ve pleytin üzeri örtüldü.
8. Pleyt, oda sıcaklığında 1 saat süreyle tekrar inkübe edildi.
9. Pleyt kuyucukları, 1X Wash Buffer ile 300 µl /kuyucuk olacak şekilde, 6 defa olmak üzere tekrar yıkandı.
10. Her bir kuyucuğa 100 µl TMB Substratı eklendi.
11. Pleyt 15 dakika oda sıcaklığında (tercihen karanlıkta) tekrar inkübe edildi.
12. Her bir kuyucuğa 100 µl Stop Solution 2 eklendi.
13. Pleyt absorbansı 450 nm de Anthus 20 rt marka ELISA cihazında ölçüldü.
14. 8-OHdG standartlarının optik dansitelerine uygun standart eğri aşağıda verildiği şekilde hesaplandı. Bu eğri formülüne göre örneklerdeki 8-OHdG yoğunluğu belirlendi.



Şekil 14. 8-OHdG standart eğrisi

3.2.6. İstatistiksel analiz

Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar; kontrol, diyabet, diyabet+likopen ve likopen gruplarının verilerinin karşılaştırıldığı Çoklu Karşılaştırma Testi ile değerlendirildi. Tüm analizlerden elde edilen ham değerler, grupların ortalaması $\pm$ standart hata şeklinde sunuldu.

4. BULGULAR

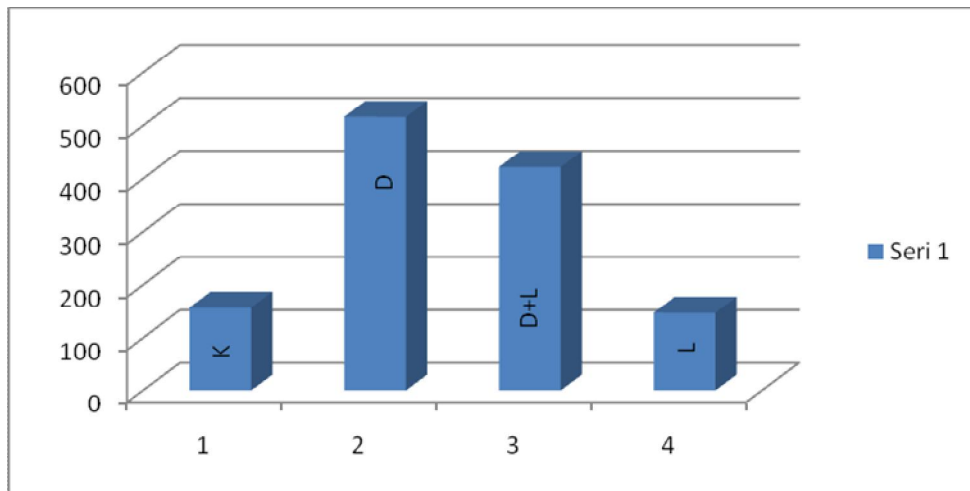
Likopen uygulanan deneysel diyabetli ratlarda serum 8-OHdG düzeylerinin saptanması amacıyla yapılan bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda sunuldu.

Kan glukoz değerleri istatistiksel olarak değerlendirildi ve Tablo 1 ve Şekil 15'te özetlendi. En yüksek kan glukoz konsantrasyonu, deneysel diyabet oluşturulan grupta ($p<0.05$) saptandı. Diyabet oluşturulduktan sonra likopen uygulanan grupta ise kan glukoz düzeylerinin kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre artmış olmakla beraber ($p<0.05$), diyabet grubundan önemli oranda düşük ($p<0.05$) olduğu görüldü. Kontrol ve likopen gruplarının kan glukoz düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 1. Kan glukoz düzeyleri (mg/dl)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	157.29±7.94a	7
Diyabet grubu	516.71±29.38b	7
Diyabet+Likopen grubu	422.02±21.68c	7
Likopen grubu	147.57±9.21a	7

Farklı harfler arasında $p<0.05$ oranında fark var.



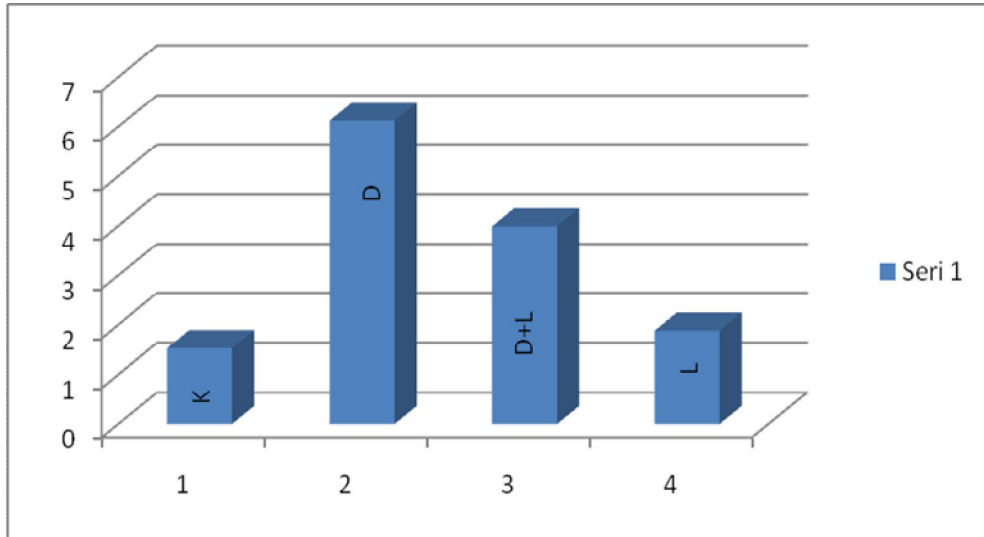
Şekil 15. Çalışma gruplarındaki ortalama Kan glukoz düzeyleri (mg/dl) düzeylerinin karşılaştırılması

%HbA1c düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi ve Tablo 2 ve Şekil 16’da özetlendi. Deneysel diyabet oluşturulan grupta en yüksek ($p<0.05$) olduğu görüldü. Diyabet+ likopen grubunda da, kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre %HbA1c düzeylerinin anlamlı ($p<0.05$) bir şekilde atmış olduğu belirlendi. Bununla beraber, diyabet grubuna göre önemli ($p<0.05$) ölçüde azaldığı saptandı. Kontrol ve likopen gruplarında %HbA1c bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi.

Tablo 2. %HbA1c düzeyleri

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	1.53±0.03a	7
Diyabet grubu	6.12±0.18b	7
Diyabet+Likopen grubu	3.99±0.08c	7
Likopen grubu	1.88±0.19a	7

Farklı harfler arasında $p<0.05$ oranında fark var.



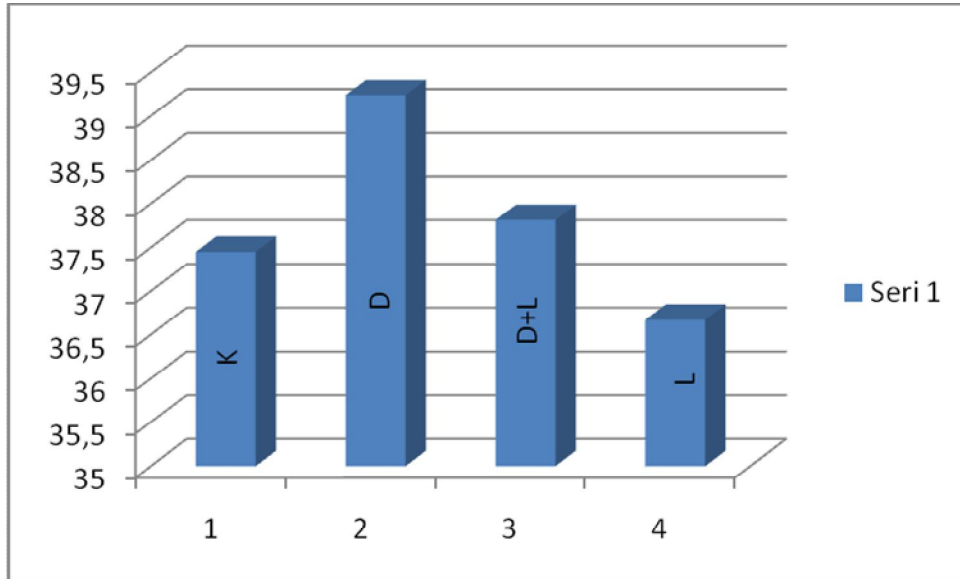
Şekil 16. Çalışma gruplarındaki ortalama %HbA1c düzeylerinin karşılaştırılması

8-OHdG düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirildi ve Tablo 3 ve Şekil 17’de özetlendi. Deneysel diyabet oluşturulan grupta DNA hasarının en yüksek ($p<0.05$) olduğu görüldü. Kontrol ve likopen gruplarında 8-OHdG bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Diyabet+ likopen grubunda ise 8-OHdG düzeylerinin diyabet grubuna göre likopen uygulanmasını takiben anlamlı ölçüde azaldığı ve kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre anlamlı ($p>0.05$) bir şekilde fark olmadığı görüldü.

Tablo 3. 8-OHdG düzeyleri (ng/mL)

Gruplar	(S±SE)	n
Kontrol grubu	37.45±1.10 ^a	7
Diyabet grubu	39.24±1.64 ^b	7
Diyabet+Likopen grubu	37.76±1.52 ^a	7
Likopen grubu	36.67±1.01 ^a	7

Farklı harfler arasında $p<0.05$ oranında fark var.



Şekil 17. 8-OHdG düzeyleri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Diyabetes mellitusun başlıca nedenleri arasında, insülin direnci, çeşitli nedenlere bağlı insülin eksikliği, beta-hücre disfonksiyonu/apoptozis sayılabilir. Yaygın olarak görülmesi ile birlikte zaman içinde ortaya çıkan önemli komplikasyonları yüzünden toplum sağlığını çeşitli yönlerden tehdit eden önemli bir sağlık problemidir.

Morbidite ve mortalite ile birlikte diyabetin prevalansının artması, ilave olarak önleyici ve tedavi edici stratejilerin geliştirilmesini gerektirir. Mevcut yöntemlere alternatif olarak tedavinin kontrolü ve risk belirlemesinde kullanılabilecek yeni biyomarkırlar gereklidir. Bu biyomarkırlar, diyabet tedavisinde daha bireyselleşmiş ve yeterli tedaviyi kolaylaştırabilir. Hem epidemiyolojik ve hem de mekanistik çalışmalarda elde edilen veriler, oksidatif stresin diyabetik komplikasyonların patolojisinde önemli bir role sahip olduğunu düşündürmektedir. Diyabette potansiyel olarak değerli bir biyolojik markır olarak kullanılabilen, hücre içi oksidatif stresin bir göstergesi de DNA oksidasyon ürünü olan 8-OHdG'dir (Broedbaek ve ark., 2011).

8-OHdG; reaktif oksijen ve hidrojen türleri aracılığı ile oluşan bir DNA hasar ürünüdür ve oksidatif stresin sabit bir göstergesidir. 8-OHdG doku, serum, idrar ve diğer biyolojik materyalde bulunabilir (Kasai ve ark., 1986; Schneider ve ark., 1990; Kasai, 1997; Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000; Lee ve ark., 2005; Shen ve ark., 2007).

Diyabet ve komplikasyonlarının patogeneğinde oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını gösteren pek çok çalışma yapılmıştır. Kuvvetli bir antioksidan olan likopen karotenoidler grubundan bir pigment olup, oksidatif strese bağlı kronik hastalıklara karşı korunmada önemlidir (Narisawa ve ark., 1998; Giovannucci, 1999; Dorgan ve ark., 2000; Erhardt ve ark., 2003; Li ve ark., 2010).

Diyabetik bireylerde serum likopen düzeylerinin, kontrol gruplarına göre önemli oranda düşük olduğunu bildiren çalışmalarda (Coyne ve ark., 2005; Li ve ark., 2010) hem HbA1c hem de glukoz metabolizmasının serum likopen düzeyleri ile istatistiksel olarak yakından ilişkisi ortaya konulmuştur. Bu verilerin ışığında diyabete bağlı olarak

bazı patolojik durumların tedavi korunmasında likopen takviyesinin yararlı olabileceği değerlendirilmektedir.

Ali ve Agha (2009), deneysel diyabet oluşturulan sıçanlarda, farklı dozlarda likopen uygulanmasının, hipoglisemik, hipolipidemik ve antioksidan aktivite üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada; STZ grubunda azalan total antioksidan aktivite ve artan plazma hidrojen peroksit ve tiyobarbitürik asit reaktif madde (TBARS) düzeylerinin, likopenin kademeli dozlarda ekzojen uygulanmasını takiben tam tersi yönde değiştiğini saptadılar. Buna göre, likopenin serum prooksidan/antioksidan dengesi üzerinde düzeltici etkiye sahip, bir antidiyabetik ajan olduğu değerlendirildi.

Kuhad ve Chopra (2008) da streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, diyabete bağlı önemli bir mikrovasküler komplikasyonu olan diyabetik nöropatik ağrının azaltılmasında likopenin olumlu etkisini bildiren bir çalışma yaptılar.

Bu tez çalışmasında, kan glukoz değerlerinin deneysel diyabet oluşturulan grupta ($p<0.05$) en yüksek olduğu, diyabet+likopen grubunda ise önemli ($p<0.05$) oranda azaldığı görüldü. Bununla birlikte, kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre ise halen yüksek ($p<0.05$) olduğu saptandı. Kontrol ve likopen gruplarının kan glukoz düzeyleri arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Aynı şekilde bu araştırmada, %HbA1c düzeylerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesinden elde edilen sonuçlar ise kan glukoz düzeyleri için belirlenen sonuçlarla uyumlu olduğu saptandı. %HbA1c düzeylerinin diyabetli grupta en yüksek ($p<0.05$), diyabet+likopen uygulanan grupta önemli oranda düşmekle birlikte ($p<0.05$), kontrol ve likopen grubundan daha yüksekti ($p<0.05$).

Kan glukoz ve %HbA1c düzeylerinin değerlendirilmesi ile elde edilen veriler, deneysel diyabet oluşturulan ratlarda, likopen uygulanmasının, bozulmuş olan glukoz metabolizması üzerinde yararlı etkilerinin olabileceğini kanıtlar niteliktedir. Nitekim diyabetik komplikasyonların tedavisi ve proflaksisinde likopen uygulanmasının, antioksidan kapasiteyi arttırarak etkili olduğuna dair bilgiler bu kanıyı desteklemektedir. (Kuhad ve Chopra, 2008; Li ve ark., 2010)

Glukoz otooksidasyonu, ileri derecede glikozilasyon, son ürün oluşumu ve hiperglisemiden kaynaklanan metabolik stres; diyabetik bireylerde oksidatif stresi açıklar (Ha ve Kim, 1999). Oksidatif stres, mutagenesis ve karsinogenesis ile seyredebilen DNA hasarını indükler (Matos ve ark., 2001).

Çeşitli iç ve dış etkenlerden kaynaklanan kimyasal ve fiziksel değişiklikler DNA'nın yapısında, replikasyonu ve transkripsiyonu durdurarak, ölümcül veya doğrudan ya da dolaylı mutajenezle mutasyonlara yol açar. Reaktif oksijen türleri, 8-oksoguanin içeren çeşitli lezyonlar oluşturur. (Turner ve ark., 2004; Kulaksız ve Sancar, 2007).

8-OHdG miktarının artışı; muhtemelen nükleer ve mitokondrial DNA'nın serbest radikaller tarafından oluşturulan oksidatif atakların bir sonucu olarak hasarlı hale gelmesine bağlıdır (Kasai, 1997; Loft ve ark., 1998; Cooke ve ark., 2000; Lee ve ark., 2005; Shen ve ark., 2007).

8-OHdG artışına neden olan durumlar arasında hiperglisemi de yer alır (Prabhakar ve ark., 2007). Kasznicki ve ark. (2012), tip 2 diyabetli bireylerde oksidatif DNA hasarının, sağlıklı kontrollerden önemli oranda yüksek olduğunu bildirmektedirler. Diyabetli bireylerde, lipit peroksidasyonunun arttığı bilinmekle birlikte, 8-OHdG, malondialdehit (MDA) gibi biomarkırların ölçümü, organizmalardaki oksidatif stres durumunu belirlemek için önemli (Piconi ve ark., 2003) bir gösterge olarak kabul edilmektedir.

Tip-1 diyabetli bireylerde, ilk aşamada idrardaki 8-OHdG artışının, oksidatif stres ve veziküler komplikasyon riskini göstermesi açısından önemli olabileceği bildirilmiştir (Ha ve Kim, 1999; Hinokio ve ark., 2002; Tsukahara ve ark., 2003; Hatat ve ark., 2006).

Sunulan bu tez çalışmasında, elde edilen 8-OHdG değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda; deneysel diyabet oluşturulan grupta DNA hasarının en yüksek ($p < 0.05$) olduğu görüldü. Kontrol ve likopen gruplarında 8-OHdG bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Diyabet+ likopen grubunda ise 8-OHdG düzeylerinin diyabet grubuna göre likopen uygulanmasını takiben anlamlı ölçüde ($p < 0.05$) azaldığı ve kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara yaklaştığı belirlendi.

Hoeldtke ve ark. (2009), DNA hasarı ve lipid peroksidasyonu arasında bir ilişki olmadığını bildirmelerine rağmen, pek çok araştırmacı deneysel diyabet ve in vitro çalışmalar sonucunda, oksidatif stresin DNA hasarına yol açtığını gösterdiler. Diyabetik hastalarda, oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG dokular ve vücut sıvılarında artar (Park ve ark., 2001; Andican ve Burçak, 2005).

Hatta plazma 8-OHdG düzeylerinin diyabetlilerde kontrolden 3 kat fazla olduğu bildirildi. Bu bireylere sadece insülin verilmesinden sonra 8-OHdG düzeyleri önemli oranda etkilenmezken insülin ve antioksidan (probucol veya vitamin E) tedavisinin birlikte yapılmasının 8-OHdG düzeylerini önemli ölçüde azatlığı ortaya konuldu (Park ve ark., 2001).

Streptozotocin (STZ)-ile oluşturulan deneysel diyabette, glukoz, glikozillenmiş hemoglobin ve oksidatif DNA hasarı kontrolden önemli oranda yüksek olduğu, glikozillenmiş hemoglobin ve oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG arasında bir korelasyon varlığı saptandı. Bu sonuçlar, oksidatif yıkımın diyabette arttığı ve bu durumun glikatif stresle ilgili olduğunu desteklemektedir (Andican ve Burçak, 2005).

Çeşitli araştırmacıların bildirdiğine göre, oksidatif DNA hasarı prediyabetli ve tip 2 diyabetli obez bireylerde kontrolden yüksektir. Oksidatif stresin artmış düzeyleri tip 2 diyabetin patolojisinde önemli rol oynar. Erken bir stres biyomarkırı olarak 8-OHdG diyabet ve diyabete meyilli bireylerde kontrolden yüksek bulundu. Hatta kan damarları ve diğer dokularda oksidatif strese bağlı DNA hasarının kalp-damar hastalık riskini arttırdığının güçlü bir göstergesi olarak 8-OHdG klinik önemini belirtir (Al-Aubaidy ve Jelinek, 2010; Al-Aubaidy ve Jelinek, 2011).

Sunulan çalışmamızda diyabetli grupta 8-OHdG düzeylerinin diğer deneme gruplarından önemli oranda yüksek bulunması literatür ile uyumludur.

Bir antioksidan olan likopen, reaktif oksijen türlerini yakalayarak, toplam antioksidan potansiyeli artırır ve oksidatif hasarı azaltır. Suplemental likopenin gen fonksiyonlarını ve hücre içi iletişimi düzenler, hormon ve immün yanıtı harekete geçirir veya metabolizmayı düzenler, böylece kronik hastalık riskini azaltır (Neyestani ve ark., 2007; Srinivasan ve ark., 2007; Anonim 8)

Lipit peroksidasyonu ve DNA hasarını önleyen likopenin antioksidan etkisi, önemli bir reaktif oksijen türleri toplayıcısı aktivitesini de kapsamaktadır (Kelkel ve ark., 2011).

Likopen uygulanmasının oksidatif DNA hasarı üzerine etkilerinin araştırıldığı pek çok çalışmada; likopen ve DNA hasarı arasında bir ters orantı olduğu (Watters ve ark., 2007), değişik düzeylerde karotenlerin hücre kültürü, deneme hayvanları ve insanlarda DNA hasarını uygulandığı doz ile yakından ilgili olmak üzere önleyebildiği (Scolastici ve ark., 2007; Azqueta ve Collins, 2012), likopen uygulanmasının oksidatif DNA yıkımı ve idrar 8-OHdG düzeylerini düşürdüğü (Devaraj ve ark., 2008) ortaya konulmuştur.

Supplemental likopen uygulanması, gerek Comet oluşumunu komple inhibe ederek, gerekse 8-OHdG düzeylerini azaltarak DNA koruyucu etki gösterir (Huang ve Hu, 2011).

Likopenin düşük dozlarının insan prostat kanseri hücre kültüründe bir antioksidan olarak etkili olurken, yüksek dozlarının DNA hasarını arttırdığı görüldü (Hwang ve Bowen, 2005). Ayrıca likopenin radyasyon kaynaklı DNA hasarını azalttığı da bildirildi (Srinivasan ve ark., 2007). Günlük 15 mg likopene denk gelen 5 haftalık domates suyu tüketiminin ağır fiziksel aktiviteyi takibe artan 8-OHdG serum düzeylerinin azalttığı saptandı (Harms-Ringdahl ve ark., 2012).

Aynı şekilde bu çalışmada da, serum 8-OHdG bakımından yapılan karşılaştırmada, 8-OHdG düzeylerinin diyabetli grupta, diğer bütün deneme gruplarından önemli oranda ($p<0.05$) artmış olmasına rağmen, diyabet+likopen grubunda, 8-OHdG düzeylerinin diyabete göre önemli oranda düşük olduğu tespit edildi. Likopen verilen diyabetik grupta (DL) 8-OHdG düzeylerinin anlamlı düzeyde düşük olması ve kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara yakın olmasının, likopenin bu çalışma için DNA hasarını azaltıcı olumlu etkisini destekleyen bir veri olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, likopen verilen diyabetik grupta (DL) kan glukozu ve %HbA1c düzeylerinin, kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre artmış olmakla beraber, diyabet grubundan önemli oranda düşük olduğu belirlendi. 8-OHdG

düzeylerinin ise, diyabet grubunda diğer deneme gruplarına göre önemli oranda artmış olmasına rağmen, likopen uygulamasının bu düzeyi kontrol ve likopen grubuna yaklaştırdığı görüldü. Likopen grubundaki 8-OHdG düzeylerinin kontrolden farksız olması ise, kullanılan likopen dozunun bu çalışma için güvenilir sınırlar içinde olduğunu destekleyen bir kriter olarak değerlendirilmektedir.

Bu verilere dayanarak; diyabete bağlı olarak artan DNA hasar göstergesi olan 8-OHdG düzeyinin likopen uygulamasına olumlu cevap vererek kontrol grubu düzeyine yaklaştığı, diyabetik bireylerde genetik materyalin korunması, dolayısı ile diyabete bağlı komplikasyonların tedavisi ve önlenmesi için yararlı etkileri olabileceği ve bu konunun ileri çalışmalarda özellikle uygulanacak doz ve süre üzerinde, organizmanın diğer sistemlerini de göz önüne alarak, daha detaylandırılarak araştırılmaya değer olduğu sonucuna varıldı.

ÖZET

Karahan F, Likopen uygulanan deneysel diyabetli ratlarda serum 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeylerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van 2012. Bu çalışma, deneysel olarak diyabet meydana getirilen ratlarda, pro-enflamatuar ve antioksidan olarak koruyuculuğu bilinen likopen uygulanmasının, DNA hasar göstergesi olan 8-OHdG düzeyleri üzerine etkilerini ortaya koymak ve likopenin diyabet komplikasyonlarındaki olası rolünü araştırmak amacıyla planlandı. Diyabet oluşturmak için D ve DL grup ratlara 45 mg/kg tek doz streptozotosin (STZ) intraperitoneal (i.p) yoldan uygulandı. Kontrol grubuna ise aynı miktarda serum fizyolojik enjekte edildi. Kan şekerleri 270 mg/dl ve üzerinde olanlar diyabetik olarak kabul edilip çalışmaya dahil edildi. L ve DL grubundaki ratlara Likopen ayçiçeği yağında çözdürülerek 10 mg/kg/gün olarak uygulandı. Dört haftalık denemeden sonra toplanan kan örneklerinde glukoz, %HbA1c, serum 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri tespit edildi. Diyabet + likopen uygulanan grupta kan glukozu ve %HbA1c kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre artmış olmakla beraber ($p<0.05$), diyabet grubundan önemli oranda düşük ($p<0.05$) olduğu görüldü. 8-OHdG düzeyleri istatistiksel olarak değerlendirilmesi sonucunda, deneysel diyabet oluşturulan grupta DNA hasarının en yüksek ($p<0.05$) olduğu görüldü. Kontrol ve likopen gruplarında 8-OHdG bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Diyabet+ likopen grubunda ise 8-OHdG düzeylerinin diyabet grubuna göre likopen uygulanmasını takiben anlamlı ölçüde azaldığı ve kontrol ve sadece likopen uygulanan gruplara göre anlamlı ($p>0.05$) bir şekilde fark olmadığı görüldü.

Anahtar Sözcükler: 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, Diabetes Mellitus, HbA1c, Likopen, Rat, STZ

SUMMARY

Karahan F, Determination of serum 8-hidroksi-2'-deoksiguanosine (8-OHdG) levels of lycopene treated experimental diabetic rats. Yüzüncü Yıl University, Health Science Institute, Department of Biochemistry, MSci. Thesis, Van 2012. Lycopene has proinflammatory and antioxidant properties. This study was planned to determine the effects of lycopene treatment on 8-hidroksi-2'-deoksiguanosine (8-OHdG) levels of experimental diabetic rats. In order to create the diabetes in rats in group D and DL groups 45 mg / kg single dose streptozotocin (STZ) was administered intraperitoneally (i.p.). After dissolving in sunflower oil 10 mg of lycopene / kg / day was administered to the rats in group L and DL. The experimental procedure continued during four weeks. The serum glucose, %HbA1c and 8-OHdG levels were determined in blood serum. Blood glucose levels and HbA1c% in Diabetes+Lycopene group increased ($p < 0.05$) compared to control and only lycopene treated group, whereas they were lower ($p < 0.05$) in diabetes group. The 8-OHdG levels of diabetic group was higher ($p < 0.05$) than other groups. Diabetic+lycopene groups were lower than diabetic group ($p < 0.05$), was decreased and reached to control groups levels after lycopene treatment.

Key words: 8-hidroksi-2'-deoksiguanosine, Diabetes Mellitus, HbA1c, Lycopene, Rats, STZ

KAYNAKLAR

- ADA (American Diabetes Association) (2008). Standards of medical care in diabetes. *Diabet Care*, 31(Suppl 1),S12-54.
- ADA (American Diabetes Association) (2011). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 34(suppl. 1), 62-69.
- Al-Aubaidy HA, Jelinek HF (2010). 8-Hydroxy-2-deoxy-guanosine identifies oxidative DNA damage in a rural prediabetes cohort. *Redox Rep*,15(4),155-160.
- Al-Aubaidy HA, Jelinek HF (2011). Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*, 164(6), 899-904.
- Ali MM, Agha FG (2009). Amelioration of streptozotocin-induced diabetes mellitus, oxidative stress and dyslipidemia in rats by tomato extract lycopene. *Gouranton J Nutr Biochem*, 69 (3), 371-379.
- Andican G, Burçak G (2005). Oxidative damage to nuclear DNA in streptozotocin-diabetic rat liver. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 32(8), 663-666.
- Anguelova T, Warthesen J (2000). Lycopene stability in tomato powders. *J Food Sci*, 65, 67-70.
- Anonim 1. http://www.daviddarling.info/encyclopedia/I/islets_of_Langerhans.html. Eriřim tarihi: řubat/2011.
- Anonim 2. <http://bodymindspiritintegration.com/wp-content/uploads/2010/01/pancreas.jpg>. Eriřim tarihi: Ocak/2010
- Anonim 3. <http://www.chem.uwec.edu/Chem406/Webpages/Ying/overview.htm>. Eriřim tarihi: řubat/ 2011
- Anonim 4. http://www.mun.ca/biology/scarr/Insulin_posttranslational_modification.htm. Eriřim tarihi: Ocak/2011
- Anonim 5 [http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2005/Dresser/My %20 favorite %20 Protein. html](http://www.bio.davidson.edu/Courses/Molbio/MolStudents/spring2005/Dresser/My%20favorite%20Protein.html). Eriřim tarihi: řubat/2011
- Anonim 6. <http://gardenrain.wordpress.com/2009/11/page/2/>. Eriřim tarihi: Kasım 2009
- Anonim 7. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-2-05>. Eriřim Tarihi: 2010
- Anonim 8. http://www.xtend-life.com/product/Omega_3_DHA_Fish_Oil_Premium.aspx. Eriřim tarihi: Ocak 2011
- Anonim 9.<http://www.starsandseas.com/SAS%20OrgChem/SASNucleic.htm>. Eriřim tarihi: Ocak 2011
- Azqueta A, Collins AR (2012). Carotenoids and DNA damage. *Mutat Res*, 733(1-2), 4-13.
- Bağrıaçık N (1997). İ.Ü. Cerrahpařa Tıp Fakóltesi Sürrekli Tıp Eđitimi Etkinlikleri, Diyabetes Mellitus Sempozyumu, İstanbul, s: 9-18.

- Bast A, Haenen GR, Van Den Berg R, Van Den Berg H (1998). Antioxidant effects of carotenoids. *Int J Vitam Nutr Res*, 68, 399–403.
- Bayşu-Sözbilir N, Bayşu N (2007). Biyokimya. Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Boileau TW, Clinton SK, Zaripheh S, Monaco MH, Donovan SM, Erdman JW Jr (2001). Testosterone and food restriction modulate hepatic lycopene isomer concentrations in male F344 rats. *J Nutr*, 131 (6), 1746-1752.
- Borodaco A (2007). Classification and diagnosis of Diabetes. *Terapia*, 15, 6-11.
- Brazionis L, Rowley K, Itsiopoulos C, O'Dea K (2009). Plasma carotenoids and diabetic retinopathy. *Br J Nutr*, 101 (2), 270-207.
- Broedbaek K, Weimann A, Stovgaard ES, Poulsen HE (2011). Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a biomarker in type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med*, 51(8), 1473-1479.
- Brownlee M, Hirsch IB (2006). Glycemic variability: A hemoglobin A1c-independent risk factor for diabetic complications. *JAMA*, 295 (14), 1707-1708.
- Cadet J, Berger M, Morin B, Raoul S, Wagner JR (1995). Oxidative damage to DNA. In: Analysis of Free Radicals in Biological Systems (Favier AE, Cadet J, Kalyanaraman B, Fontecave M, Pierre J-L, eds). Boston, MA: Birkhauser Verlag, 51-64.
- Chiou CC, Chang PY, Chan EC, Wu TL, Tsao KC, Wu JT (2003). Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clin Chim Acta*, 334, 87-94.
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003). Oxidative DNA damage: Mechanism, mutation and disease. *FASEB J*, 17(10), 1195-1214.
- Cooke MS, Evans MD, Herbert KE, Lunec J (2000). Urinary 8-oxo-20-deoxyguanosine source, significance and supplements. *Free Radic Res*, 32, 381–397.
- Coyne T, Ibiebele TI, Baade PD, Dobson A, McClintock C, Dunn S, Leonard D, Shaw J (2005). Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia. *Am J Clin Nutr*, 82(3), 685-693.
- De Martinis BS, De Lourdes-Pires Bianchi M (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacol Res*, 46 (2), 129-31.
- Dede S (1999a). Hormonlar. Biyokimya, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Yayını, Van (Ed. Mert N). 146-177.
- Dede S (1999b). Vitaminler. Biyokimya, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Yayını, Van (Ed. Mert N). 178-194.
- Devaraj S, Mathur S, Basu A, Aung HH, Vasu VT, Meyers S, Jialal I (2008). A dose-response study on the effects of purified lycopene supplementation on biomarkers of oxidative stress. *J Am Coll Nutr*, 27(2), 267-273.

- Dizdaroglu M (1998). Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free Radic Res*, 29 (6), 551-563.
- Dorgan JF, Sowell A, Swanson CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, Stephenson HE Jr (2000). Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett*, 154, 201-210.
- Erdoğan G (2005). Endokrinoloji Temel ve Klinik. Diyabetes Mellitus'ta Sınıflandırma, 343.
- Erhardt JG, Meisner C, Bode JC (2003). Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas. *Am J Clin Nutr*, 78, 1219-1224.
- Fairbanks VF, Klee GG (1994). Biochemical Aspects of Hematology. In: Tietz Textbook of Clinical Chemistry Second edition. Edited by CA Burtis&ER Ashwood, W. B. Saunders Company Philadelphia, 1974-2072
- Floyd RA (1990). Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB J*, 4, 2587-2597.
- Fowler GC, Vasudevan DA (2010). Type 2 diabetes mellitus: managing hemoglobin A(1c) and beyond. *South Med J*, 103(9), 911-916.
- Giovannucci E (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer, review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst*, 91, 317-331.
- Greenberg MM (2004): In vitro and in vivo effects of oxidative damage to deoxyguanosine. *Biochem Soc Trans*, 32, 46–50.
- Ha H, Kim KH (1999). Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase C. *Diabetes Res Clin Pract*, 45(2-3),147-151.
- Halliwell B (1996). Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free Radic Res*, 25, 57–74.
- Harms-Ringdahl M, Jenssen D, Haghdoust S (2012). Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-oxodG after extensive physical activity. *Nutr J*, 11(1), 29.
- Hatat I, Kaji M, Hirano S, Shigematsu Y, Tsukahara H, Mayumi M (2006). Urinary oxidative stress markers in young patients with type 1 diabetes. *Pediatr Int*, 48, 58–61.
- Hazlewood LC, Wood LG, Hansbro PM, Foster PS (2011) .Dietary lycopene supplementation suppresses Th2 responses and lung eosinophilia in a mouse model of allergic asthma. *J Nutr Biochem*, 22(1), 95-100.
- Hinokio Y, Suzuki S, Hirai M, Suzuki C, Suzuki M, Toyota T (2002). Urinary excretion of 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a predictor of the development of diabetic nephropathy. *Diabetologia*, 45(6), 877-882.
- Hoeldtke RD, Bryner KD, Corum LL, Hobbs GR, Van Dyke K (2009). Lipid peroxidation in early type 1 diabetes mellitus is unassociated with oxidative damage to DNA. *Metabolism*, 58(5),731-734.

- Huang CS, Hu ML (2011). Lycopene inhibits DNA damage and reduces hMTH1 mRNA expression in the liver of Mongolian gerbils treated with ferric nitrilotriacetate. *Food Chem Toxicol*, 49(6), 1381-1386.
- Hwang ES, Bowen PE (2005). Effects of lycopene and tomato paste extracts on DNA and lipid oxidation in LNCaP human prostate cancer cells. *Biofactors*, 23(2), 97-105.
- Karppi J, Kurl S, Laukkanen JA, Rissanen TH, Kauhanen J (2011). Plasma carotenoids are related to intima-media thickness of the carotid artery wall in men from eastern Finland. *J Intern Med*, 270(5), 478-485.
- Kasai H (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage 8-hydroxy- 20-deoxyguanosine as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat Res*, 387, 146-163.
- Kasai H (2002). Serial review: oxidative DNA damage and repair: Chemistry-based studies on oxidative DNA damage: formation, repair, and mutagenesis. *Free Radical Biol Med*, 33(4), 450-456.
- Kasai H (2003). A new automated method to analyze urinary 8-hydroxydeoxyguanosine by a high-performance liquid chromatography-electrochemical detector system. *J Radiat Res*, 44, 185-189.
- Kasai H, Crain PF, Kuchino Y, Nishimura S, Ootsuyama A, Tanooka H (1986): Formation of 8-hydroxyguanine moiety in cellular DNA by agents producing oxygen radicals and evidence for its repair. *Carcinogenesis*, 7(11), 1849-1851.
- Kasznicki J, Kosmowski M, Sliwiska A, Mrowicka M, Stanczyk M, Majsterek I, Drzewoski J (2012). Evaluation of oxidative stress markers in pathogenesis of diabetic neuropathy. *Mol Biol Rep*, 39(9), 8669-8678.
- Kelkel M, Schumacher M, Dicato M, Diederich M (2011). Antioxidant and anti-proliferative properties of lycopene. *Free Radic Res*, 45(8), 925-940.
- Koolman J, Roehm KH (2005). Color Atlas of Biochemistry, 2nd Ed., Thieme.
- Kuhad A, Chopra K (2008). Lycopene ameliorates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rat. *Indian J Exp Biol*, 46(2), 108-111.
- Kuhad A, Sharma S, Chopra K (2008). Lycopene attenuates thermal hyperalgesia in a diabetic mouse model of neuropathic pain. *Eur J Pain*, 12(5), 624-632.
- Kulaksız G, Sancar A (2007). Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser. *Turk J Biochem*, 32(3), 104-111.
- Kurt İ (2003). Glukozile hemoglobin(HbA1c) ölçümü ve diabetes mellitusun uzun dönem glisemik kontrolünde kullanılması. *Gülhane Tıp Derg*, 45(4), 387-395.
- Lau T, Carlsson PO, Leung PS (2004). Evidence for a local angiotensin-generating system and dose-dependent inhibition of glucose-stimulated insulin release by angiotensin II in isolated pancreatic islets. *Diabetologia*, 47, 240-248.

- Lee J, Lee M, Kim JU, Song KI, Choi YS, Cheong SS. (2005). Carvedilol reduces plasma 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in mild to moderate hypertension. A pilot study. *Hypertension*, 45, 986-990
- Li ZZ, Lu XZ, Ma CC, Chen L (2010). Serum lycopene levels in patients with diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol*, 20(4), 719-723.
- Loft S, Deng XS, Tuo J, Wellejus A, Sorensen M, Poulsen HE (1998). Experimental study of oxidative DNA damage. *Free Radic Res*, 29, 525–539.
- Mashima R, Witting PK, Stocker R (2001). Oxidants and antioxidants in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 12(4), 411-418.
- Matos HR, Capelozzi VL, Gomes OF, Di Mascio P, Medeiros MHG (2001). Lycopene Inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate. *Arch Biochem Biophys*, 396(2), 171–177.
- Mc Dorman KS, Pachkowski BF, Nakamura J, Wolf DC, Swenberg JA (2005). Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in long-evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products. *Chem Biol Interact*, 152(2-3), 107-117.
- Molitch ME. (1990). Diabetes mellitus. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. Boston, Butterworths, Chapter 136.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry*. Twenty-sixth ed., Lange Medical Books/McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- Murray, RK, Granner, DK, Mayes, PA and Rodwell, VW (1993) *Harper'in Biyokimyası*. Çev: Prof. Dr. G.Menteş, Prof. Dr. B.Ersöz, Barış Kitabevi, İstanbul.
- Nakano M, Kawanishi Y, Kamohara S, Uchida Y, Shiota M, Inatomi Y, Komori T, Miyazawa K, Gondo K, Yamasawa I (2003). Oxidative DNA damage (8-hydroxydeoxyguanosine) and body iron status: a study on 2507 healthy people. *Free Radic Biol Med*, 35(7), 826-832.
- Narisawa T, Fukaura Y, Hasebe M, Nomura S, Oshima S, Sakamoto H, Inakuma T, Ishiguro Y, Takayasu J, Nishino H (1998). Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats by lycopene and tomato juice rich in lycopene. *Jpn J Cancer Res*, 89(10), 1003-1008.
- Neyestani TR, Shariatzadeh N, Gharavi A, Kalayi A, Khalaji N.(2007) Physiological dose of lycopene suppressed oxidative stress and enhanced serum levels of immunoglobulin M in patients with Type 2 diabetes mellitus: a possible role in the prevention of long-term complications. *J Endocrinol Invest*, 30(10), 833-838.
- Nguyen ML, Schwartz SJ (1999). Lycopene, chemical and biological properties. *Food Technol*, 53, 38–45.
- Nussey S, Whitehead S (2001). Anatomical features of pancreatic islets in relation to hormone secretion and its control. In; *Endocrinology: An Integrated Approach*. BIOS Scientific Publishers, Oxford.

- Park KS, Kim JH, Kim MS, Kim JM, Kim SK, Choi JY, Chung MH, Han B, Kim SY, Lee HK (2001). Effects of insulin and antioxidant on plasma 8-hydroxyguanine and tissue 8-hydroxydeoxyguanosine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, 50(12), 2837-2841.
- Piconi L, Quagliaro L, Ceriello A (2003). Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med*, 41, 1144–1149.
- Powers AC. (2005). Diabetes mellitus. In: Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, Braunwald E, Hauser SL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 16th ed. USA: McGraw Hill, 2152- 2180.
- Prabhakar S, Starnes J, Shi S, Lonis B, Tran R (2007). Diabetic nephropathy is associated with oxidative stress and decreased renal nitric oxide production. *J Am Soc Nephrol*, 18, 2945-2952.
- Pruthi RS, Derksen E, Gaston K (2003). Cyclooxygenase-2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors, a review. *J Urol*, 169, 2352–2359.
- Sacks DB (1994). Carbohydrates. In: Burtis CA, Ashwood ER, Editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 2nd ed. Philadelphia. *Saunders*, pp: 928-1001
- Schneider JE, Price S, Maitl L, Gutteridge JM, Floyd RA (1990). Methylene blue plus light mediates 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation in DNA preferentially over strand breakage. *Nucleic Acids Res*, 18, 631–635.
- Scolastici C, Alves de Lima RO, Barbisan LF, Ferreira AL, Ribeiro DA, Salvadori DM (2007). Lycopene activity against chemically induced DNA damage in Chinese hamster ovary cells. *Toxicol In Vitro*, 21(5), 840-845.
- Sevindik H (2007). Pembe greyfurt suyu ve domates pulpunda likopen ve β -Karotenin Isıl Stabiliteleri. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Shen J, Deininger P, Hunt JD, Zhao H (2007). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OH-dG) as a potential survival biomarker in patients with nonsmall-cell lung cancer. *Cancer*, 109(3), 574-580.
- Shidfar F, Froghifar N, Vafa M, Rajab A, Hosseini S, Shidfar S, Gohari M (2011). The effects of tomato consumption on serum glucose, apolipoprotein B, apolipoprotein A-I, homocysteine and blood pressure in type 2 diabetic patients. *Int J Food Sci Nutr*, 62(3), 289-294.
- Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci*, 86, 9697-9701.
- Sjølie AK, Dodson P, Hobbs FR (2011). Does renin-angiotensin system blockade have a role in preventing diabetic retinopathy? A clinical review. *Int J Clin Pract*, 65(2), 148-153.
- Srinivasan M, Sudheer AR, Pillai KR, Kumar PR, Sudhakaran PR, Menon VP (2007). Lycopene as a natural protector against gamma-radiation induced DNA damage, lipid

peroxidation and antioxidant status in primary culture of isolated rat hepatocytes in vitro. *Biochim Biophys Acta*, 1770(4), 659-665.

Stryer, L(1995). Biochemistry. WH Freeman and Company. New York. 147-153

Tahmasebi M, Puddefoot JR, Inwang ER, Vinson GP (1999). The tissue renin-angiotensin system in human pancreas. *J Endocrinol*, 161, 317-322.

Tanyolaç A (1984). Özel Histoloji, Ankara Üniv Vet Fak Yay: 398, Ankara, 72-73.

Tesfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, Freeman R, Horowitz M, Kempler P, Lauria G, Malik RA, Spallone V, Vinik A, Bernardi L, Valensi P.(2010). Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes Care*, 33(10), 2285-2293.

Tsukahara H (2007). Biomarkers for oxidative stress: clinical application in pediatric medicine. *Curr Med Chem*, 14(3), 339-351.

Tsukahara H, Sekine K, Uchiyama M, Kawakami H, Hata I, Todoroki Y, Hiraoka M, Kaji M, Yorifuji T, Momoi T, Yoshihara K, Beppu M, Mayumi M (2003). Formation of advanced glycosylation end products and oxidative stress in young patients with type 1 diabetes. *Pediatr Res*, 4, 419-424.

Turner PC, Mc Lannan AG, Bates AD, White MRH (2004). Moleküler Biyoloji. 2. baskıdan çeviri, çeviri editörü: Prof. Dr. M. Konuk, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.

Vardı N, Iraz M, Öztürk F, Uçar M, Gül M, Eşrefoğlu M, Otlı A (2005). Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler üzerine melatoninin iyileştirici etkileri. *İ Ü Tıp Fak Derg*, 12, 45-52.

Wang L, Liu S, Pradhan AD, Manson JE, Buring JE, Gaziano JM, Sesso HD (2006). Plasma lycopene, other carotenoids, and the risk of type 2 diabetes in women. *Am J Epidemiol*, 164(6), 576-585.

Watters JL, Satia JA, Kupper LL, Swenberg JA, Schroeder JC, Switzer BR (2007). Associations of antioxidant nutrients and oxidative DNA damage in healthy African-American and White adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 16(7), 1428-14136.

Williams GM, Jeffrey AM (2000). Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced. *Regul Toxicol Pharmacol*, 32 (3), 283-292.

Yenigün M (1997). Mikro ve Makroanjiyopatiler: Kardiyovasküler Diabet Edit., Yenigün M.,İ.Ü. Basımevi, s: 150-222.

Zhu J, Wang CG, Xu YG (2011). Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress. *Pharm Biol*, 49(11), 1144-1149.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Gaziantep'in Nizip ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Gaziantep'te tamamladı. 2002 yılında girdiği Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümün'den 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Halen bu öğrenimine devam etmektedir.

Ek-1: Etil Kurul Raporu (Sayı:B.30.2.YYÜ.0.05.06.00/300-65)



**T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı**

**Sayı : B.30.2.YYÜ.0.05.06.00/300-65
Konu :**

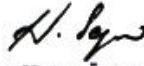
29.01.2010

**Sayın : Prof. Dr. Semiha DEDE
Veteriner Fakültesi**

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 28.01.2010 tarih ve 15 sayılı kararı gereğince; Yürüttüğünüz yapmış olduğunuz "Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Likopen Uygulamasının ACE Aktivitesi Üzerine Etkisi " isimli projenize raporör değerlendirme sonucuna göre YUHADYEK tarafından çalışma onayı verilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce, çalışmalarınızı kurul üyelerinin denetimine açmanız zorunludur.

Projenizi denetlemek için Tıp Fakültesinden Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR ve Yrd. Doç. Dr. Görkem YAMAN denetleyici olarak görevlendirilmiştir. İlgili denetleyiciler ile çalışmaya başlamadan önce temasa geçmeniz gerekmektedir.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.


**Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR
YUHADYEK Başkanı**

Eki: Araştırma Başvuru Onay Belgesi (1adet)

Ek-2: Etik Kurul Yazısı (Sayı:B.30.2.YYÜ.0.05.06.00/300-111)



T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : B.30.2.YYÜ.0.05.06.00/300-111

16.03.2011

Konu :

Sayın: Prof. Dr. Semiha DEDE
Veteriner Fakültesi

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "Likopen Uygulanan Deneysel Diyabetli Ratların Böbrek Dokusunda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) Düzeylerinin Belirlenmesi" isimli proje ile ilgili 07/01/2011 tarih ve 1 sayılı yazımızda; Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK)' ndan izin alınarak yapılan deneysel araştırmanın daha sonra dondurularak yada parafinlenerek saklanan dokuları kullanılarak yapılacak başka bir araştırma için yeniden HADYEK izni alınmasına gerek olup olmadığına dair Hayvan Deneyleri Merkezi etik Kurulu (HADMEK)'nün görüşü istenmişti.

Bu kapsamda HADMEK 'in 18/02/2011 tarihli ve 20 sayılı kararı doğrultusunda; (HADYEK)' den izin alınarak yapılan deneysel araştırmanın daha sonra dondurularak yada parafinlenerek saklanan dokuları kullanılarak yapılacak başka bir araştırma ile ilgili olarak YÜHADYEK' e başvuruda bulunulması ve YÜHADYEK tarafından söz konusu araştırmalar için "Etik Kurul İznine gerek bulunmadığına karar verilmiştir. Bu belge etik kurul izni yerine geçmek üzere hazırlanmıştır" ifadesi yer almıştır.

Bu nedenle bu yazı "Araştırma Başvuru Onay Belgesi" yerine geçmektedir.
Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Hülya ÖZDEMİR
YÜHADYEK Başkanı

T.C.
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Adı	Deneysel Diyabet Oluşturulan Ratlarda Likopen Uygulamasının ACE Aktivitesi Üzerine Etkisi
	Araştırmanın Yürütücüsü	Prof.Dr. Semiha DEDE
	Yardımcı Araştırmacılar	Yüksek Lisans Öğrencisi Şerif ÖZMUTLU
	Kurumu	Veteriner Fakültesi
	Araştırmanın Tahmini Süresi	12 ay
	Kullanılacak Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan 28 Adet
	Destekleyecek Kuruluş (lar)	
	Başvuru Tarihi	16.09.2009

KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2010/01- 04	Tarih:28.01.2010
	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi öğretim üyesi/elemanı Prof.Dr. Semiha DEDE sorumluluğunda yürütülmesi planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma projesi gerekçe, amaç ve yöntemler dikkate alınarak ilgi başvuru belgeleri incelendi. Çalışmanın etik açıdan uygun olduğuna, projenin aşağıdaki hususlar dikkate alınarak yürütülmesine ve proje yürütücüsüne iletilmesine oy birliği /oy çokluğu ile karar verildi. 1) Projede herhangi bir değişiklik gerektiğinde kurulumuzdan onay alınması. 2) Projede çalışacağı bildirilen araştırmacılar değişikliği olduğunda kurulumuzdan onay alınması. 3) Deney hayvanları üzerinde yapılacak girişimin başlangıç ve bitiş tarihlerinin bildirilmesi. 4) Çalışma süresinde tamamlanamaz ise ek süre talebinde bulunulması. 5) Çalışma tamamlandığında sonuç raporunun gönderilmesi.	

ETİK KURUL ÜYELERİ		
BASKAN Prof. Dr. Hülya DEMİR	BASKAN YARDIMCISI Prof. Dr. Murat DEMİR	
ÜYELER		
Doç. Dr. Hasan ÜLKER	Prof. Dr. Zabit YENER (katılmadı)	
Doç. Dr. Handan MERT	Doç. Dr. Abuzer TAŞ (katılmadı)	
Doç. Dr. Mehmet KARACA	Yrd. Doç. Dr. Atilla DURMUŞ	
Doç. Dr. Necmettin AKDENİZ	Yrd. Doç. Dr. Gökem YAMAN	
Yrd. Doç. Dr. Nurettin CENGİZ (katılmadı)	Yrd. Doç. Dr. Şükran SEVİMLİ (katılmadı)	
Yrd. Doç. Dr. Fazıl ŞEN	Gökmen AYTİN (katılmadı)	Av. Serdar KARTAL(katılmadı)

*Bu form YÜHADYEK tarafından doldurulacaktır.